

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID
FACULTAD DE CIENCIAS

Departamento de Química Agrícola y Bromatología



TESIS DOCTORAL

**Tratamiento de caqui con altas presiones
hidrostáticas: evaluación de parámetros que
caracterizan la pared celular**

María Rodríguez Garayar

Madrid, 2015

Trabajo realizado bajo la dirección de:

Dra. María Ángeles Martín Cabrejas

Dra. Rosa María Esteban Álvarez



Facultad de Ciencias
Departamento de Química Agrícola y Bromatología

MARÍA ÁNGELES MARTÍN-CABREJAS, PROFESORA TITULAR DE
UNIVERSIDAD, Y ROSA MARÍA ESTEBAN ÁLVAREZ, CATEDRÁTICA DE
UNIVERSIDAD, AMBAS DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA
Y BROMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA
UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE MADRID

CERTIFICAN:

Que D^a María Rodríguez Garayar, ha realizado bajo nuestra dirección y en este Departamento el trabajo que lleva por título “Tratamiento de caqui con altas presiones hidrostáticas: evaluación de parámetros que caracterizan la pared celular” que constituye su Memoria de Tesis Doctoral. Dicho trabajo reúne las condiciones necesarias para su presentación y defensa.

Y para que conste a los efectos oportunos firmamos el presente certificado en
Madrid, a 3 de noviembre de 2015.

Fdo.: María Ángeles Martín-Cabrejas Fdo.: Rosa María Esteban Álvarez



Facultad de Ciencias
Departamento de Química Agrícola y Bromatología

RAMÓN O. CARPENA RUIZ, CATEDRÁTICO DE UNIVERSIDAD Y
DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA Y
BROMATOLOGÍA DE LA FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UNIVERSIDAD
AUTÓNOMA DE MADRID

CERTIFICA:

Que el trabajo de investigación titulado: “Tratamiento de caqui con altas presiones hidrostáticas: evaluación de parámetros que caracterizan la pared celular” se ha realizado en este Departamento bajo la dirección de las Dras. María Ángeles Martín-Cabrejas y Rosa María Esteban Álvarez, y que constituye la Memoria que presenta D^a María Rodríguez Garayar para optar al Grado de Doctor.

Y para que conste a los efectos oportunos firmo el presente certificado en Madrid,
a 3 de noviembre de 2015.

Fdo. Ramón O. Carpena Ruiz

A mis abuelos

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar, me gustaría agradecer a las entidades que han apoyado económicamente esta Tesis doctoral. Por un lado, al Ministerio de Ciencia e Innovación, por financiar el proyecto que lleva por título *“Mejora de la funcionalidad de los compuestos bioactivos de tejidos vegetales mediante la aplicación de altas presiones: estudios químicos, microestructurales y nutricionales”* (AGL2008-04798-C02-01/ALI) del Plan Nacional de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias. Por otro lado, al Departamento de Educación, Universidades e Investigación del Gobierno Vasco, por concederme una ayuda del Programa de Formación de Personal Investigador.

También me gustaría expresar mi más sincera gratitud a las personas que han hecho posible la realización de este trabajo:

A la Dra. M^a Ángeles Martín Cabrejas, por iniciarme en el mundo de la investigación, por desprender pasión por el conocimiento y entusiasmo, por su cariño y palabras de ánimo. Gracias por valorarme, por respetar mis ideas, y por la ayuda que me has dado.

A la Dra. Rosa M^a Esteban Álvarez, por darme la oportunidad de formarme profesionalmente en el Grupo de Química Agroalimentaria de la UAM, así como por guiarme y aconsejarme. Gracias por tu paciencia y dedicación.

A todo el personal del Departamento de Química Agrícola y Bromatología de la UAM, al del Instituto de Investigación en Ciencias de la Alimentación (CIAL), y al Grupo de Química Agroalimentaria, por ser referentes del trabajo bien hecho.

A José Luis y a María, por hacer amenos los días de procesado de muestras.

A todos aquellos con quienes he pasado horas en el laboratorio, especialmente a Raquel, Gussiel, Natalia, Teresa, Carlos y Miguel, por vuestras ganas de aprender, por tener iniciativa, por lo compartido tanto dentro como fuera del laboratorio, y por haberme enseñado mucho acerca de cómo afrontar el trabajo y la vida.

Al grupo de las “Ms” en su versión extendida (Marga, Mario, Mar y Teresa), por crear momentos de felicidad sobre ruedas.

A mis compañeros de baile, por dibujar sonrisas y ayudarme a hacer llevadera la etapa de escritura de esta Tesis; ¡gracias, *lindy hoppers*!

A todos aquellos con quienes he compartido vida durante estos años, gracias por el enriquecimiento personal que supone haberos tenido cerca.

A mi hermano, por su implicación, críticas constructivas y aportaciones.

A mi padre, por su energía, comprensión y apoyo.

MUCHAS GRACIAS / MILA ESKER

ÍNDICE GENERAL

I. Introducción.....	1
II. Objetivos	7
III. Antecedentes	11
1. PARED CELULAR VEGETAL	13
1.1. DEFINICIÓN Y ESTRUCTURA FÍSICO-QUÍMICA	13
• Polisacáridos	14
• Fenoles	21
• Lignina.....	21
• Proteínas estructurales	21
• Cutina, suberina y ceras	23
1.2. MODELO ESTRUCTURAL DE LA PARED PRIMARIA	23
1.3. FUNCIONES DE LA PARED CELULAR.....	24
• Resistencia mecánica.....	25
• Adhesión celular.....	26
• Función estomática	26
1.4. ENZIMAS DE LA PARED CELULAR.....	26
• Pectinmetilesterasa (PME).....	28
• Poligalacturonasa (PG)	29
2. TANINOS CONDENSADOS.....	30
2.1. INTERACCIÓN TANINO-PARED CELULAR.....	31
• Enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas	32
• Polisacáridos: influencia de su estructura/composición	33
• Taninos: influencia de su estructura/composición	35
3. FIBRA ALIMENTARIA	37
3.1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN.....	37
3.2. PROPIEDADES TECNOLÓGICAS.....	39

• Tamaño de partícula	40
• Solubilidad.....	40
• Propiedades de hidratación.....	40
• Capacidad de retención de aceite.....	42
• Viscosidad	42
• Capacidad antioxidante	42
• Capacidad quelante	43
3.3. IMPORTANCIA EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA	43
3.4. EFECTOS FISIOLÓGICOS	45
• Absorción	45
• Fermentación	46
• Adsorción.....	47
• Motilidad gastrointestinal.....	47
• Sistema inmunitario	48
3.5. FIBRA ALIMENTARIA FRENTE A ENFERMEDADES.....	48
• Diabetes	48
• Enfermedades coronarias.....	49
• Obesidad.....	49
• Enfermedades gastrointestinales	49
• Cáncer colorrectal.....	49
4. CAQUI	50
4.1. PRODUCCIÓN DE CAQUI	51
4.2. REQUERIMIENTOS EDAFOCLIMÁTICOS.....	52
4.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FRUTO.....	53
4.4. MADURACIÓN.....	54
4.5. TRATAMIENTO POSTCOSECHA: ELIMINACIÓN DE LA.....	
ASTRINGENCIA.....	56
4.6. INDUSTRIALIZACIÓN DE LOS FRUTOS DE CAQUI	57

5. ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS	57
5.1. PRINCIPIOS FUNDAMENTALES	58
5.2. VENTAJAS Y LIMITACIONES	59
5.3. EFECTO SOBRE LAS ENZIMAS DE LA PARED CELULAR	60
• Estabilidad y actividad enzimática	60
5.4. EFECTO SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS	63
IV. Plan de trabajo	65
V. Materiales y métodos	69
1. MUESTRAS	71
Caquis para estudio de altas presiones hidrostáticas	71
Caquis para estudio de tratamientos combinados de altas presiones hidrostáticas-temperatura:	74
Caquis para estudio del almacenamiento en refrigeración	74
2. MÉTODOS	76
Humedad	76
Fibra alimentaria	76
Proteínas	77
Contenido de RIA	78
Composición del RIA	79
Actividad enzimática PME	81
Actividad enzimática PG	84
Grado de metilesterificación de las pectinas	86
Propiedades tecnofuncionales	86
• Densidad aparente	87
• Capacidad de retención de aceite	87
• Capacidad de gelificación	87
• Propiedades de hidratación	87
Estadística	89
VI. Resultados y discusión	93
CAPÍTULO 1: ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS EN CAQUIS ROJO BRILLANTE DE DISTINTA MADURACIÓN Y ASTRINGENCIA	95

1. FIBRA ALIMENTARIA.....	95
Fibra Alimentaria de Caquis sin Tratamiento de APH.....	95
• Caqui astringente control de maduración III.....	95
• Caqui no astringente control de maduración III.....	96
• Caqui astringente control de maduración V.....	98
• Caqui no astringente control de maduración V.....	99
• Conclusiones parciales.....	100
Fibra Alimentaria de Caquis Tratados con APH	100
• Caquis astringentes de maduración III (A, III)	100
• Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)	105
• Caquis astringentes de maduración V (A, V).....	109
• Caquis no astringentes de maduración V (NA, V).....	113
• Análisis multivariante de fibra alimentaria (materia seca)	117
• Análisis multivariante de fibra alimentaria (materia fresca)	121
• Conclusiones parciales.....	123
2. RESIDUO INSOLUBLE EN ALCOHOL	124
• Caquis astringentes de maduración III (A, III)	124
• Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)	127
• Caquis astringentes de maduración V (A, V).....	128
• Caquis no astringentes de maduración V (NA, V).....	129
• Conclusiones parciales.....	132
3. COMPOSICIÓN DEL RESIDUO INSOLUBLE EN ALCOHOL.....	133
Composición del RIA de Caquis sin Tratamiento de APH	133
• Caqui astringente control de maduración III.....	133
• Caqui no astringente control de maduración III.....	136
• Caqui astringente control de maduración V.....	138
• Caqui no astringente control de maduración V.....	140
• Conclusiones parciales.....	143
Efecto de las APH sobre la Composición del RIA.....	143
• Caquis astringentes de maduración III (A, III)	144

• Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)	151
• Caquis astringentes de maduración V (A, V)	156
• Caquis no astringentes de maduración V (NA, V).....	163
• Conclusiones parciales.....	170
4. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS.....	171
Actividad Pectinmetilesterasa (PME)	171
• Caquis astringentes de maduración III (A, III).....	171
• Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)	174
• Caquis astringentes de maduración V (A, V)	175
• Caquis no astringentes de maduración V (NA, V).....	176
Actividad Poligalacturonasa (PG)	178
• Caquis astringentes de maduración III (A, III).....	178
• Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)	178
• Caquis astringentes de maduración V (A, V)	181
• Caquis no astringentes de maduración V (NA, V).....	181
Análisis multivariante.....	183
• Dendrograma PME.....	183
• Dendrograma PG.....	184
• Dendrograma conjunto	186
Conclusiones parciales	187
5. GRADO DE METILESTERIFICACIÓN.....	188
• Caquis astringentes de maduración III (A, III).....	188
• Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)	191
• Caquis astringentes de maduración V (A, V)	194
• Caquis no astringentes de maduración V (NA, V).....	196
• Análisis multivariante.....	198
• Conclusiones parciales.....	200
6. PROPIEDADES TECNOFUNCIONALES.....	200
Propiedades Tecnofuncionales de Caquis sin Tratamiento de APH.....	201
• Caqui astringente control de maduración III.....	201

• Caqui no astringente control de maduración III	204
• Caqui astringente control de maduración V	206
• Caqui no astringente control de maduración V	207
• Conclusiones parciales	208
Propiedades Tecnofuncionales de Caquis Tratados con APH	209
• Caquis astringentes de maduración III (A, III)	209
• Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)	213
• Caquis astringentes de maduración V (A, V)	217
• Caquis no astringentes de maduración V (NA, V)	221
• Análisis Multivariante	225
• Conclusiones parciales	226
CAPÍTULO 2: EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS DE	
ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS-TEMPERATURA	229
1. FIBRA ALIMENTARIA Y RIA	230
2. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS Y GM	231
• Conclusiones parciales	233
CAPÍTULO 3: ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN	235
1. FIBRA ALIMENTARIA	235
2. RESIDUO INSOLUBLE EN ALCOHOL	238
3. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS	240
Actividad Pectinmetilesterasa (PME)	240
Actividad Poligalacturonasa (PG)	243
4. GRADO DE METILESTERIFICACIÓN	245
5. PROPIEDADES TECNOFUNCIONALES	247
• Conclusiones parciales	251
VII. Conclusiones	253
VIII. Bibliografía	257
IX. Anexo	293

ABREVIATURAS

A	astringente
AG-I	arabinogalactano-I
AGA	ácido galacturónico
AOAC	association of official analytical chemists
APH	altas presiones hidrostáticas
Ara	arabinosa
AN	azúcares neutros
ANOVA	análisis de varianza de un factor
AU	ácidos urónicos (azúcares ácidos)
C	control
CAA	capacidad de absorción de agua
Cel	celobiosa
CH	capacidad de hinchamiento
CRA	capacidad de retención de agua
CRAc	capacidad de retención de aceite
Dha	ácido 3-desoxi-D-lyxo-heptulosárico
D	día
DA	densidad aparente
DOP	denominación de origen protegida
EDTA	ácido etilendiaminotetraacético
FA	fibra alimentaria
FI	fibra insoluble
FS	fibra soluble
FT	fibra total
Gal	galactosa
Glu	glucosa
GM	grado de metilesterificación
GP	grado de polimerización
HF	hidrólisis fuerte
HG	homogalacturonano
HPLC	High performance liquid chromatography (cromatografía líquida de alta eficacia)
HS	hidrólisis suave
Kdo	ácido 3-desoxi-D-mano-octulosónico
LDL	lipoproteína de baja densidad
Man	manosa
MCG	mínima concentración de gelificación
mf	materia fresca
MHDP	m-hidroxidifenilo
ms	materia seca
N	nitrógeno
NA	no astringente
PG	poligalacturonasa
PL	pectato liasa
PME	pectinmetilesterasa

PMEI	inhibidor de la PME
PNL	pectin liasa
PVP	polivinilpirrolidona
Ram	ramnosa
RG-I	ramnogalacturonano-I
RG-II	ramnogalacturonano-II
RG	residuo gravimétrico
RGI	residuo gravimétrico insoluble
RGS	residuo gravimétrico soluble
RIA	residuo insoluble en alcohol
t	tiempo
V	volumen
XGA	xilogalacturonano
Xil	xilosa

El trabajo de Tesis doctoral que se presenta forma parte del proyecto “*Mejora de la funcionalidad de los compuestos bioactivos de tejidos vegetales mediante la aplicación de altas presiones: estudios químicos, microestructurales y nutricionales*” (Proyecto AGL2008-04798-C02-01/ALI) del Plan Nacional de Recursos y Tecnologías Agroalimentarias del Ministerio de Ciencia e Innovación, en colaboración con el entonces Instituto del Frío del Consejo Superior de Investigaciones Científicas (CSIC) y con la Universidad Politécnica de Valencia. Este trabajo se ha llevado a cabo fundamentalmente en el Departamento de Química Agrícola y Bromatología de la Universidad Autónoma de Madrid.

En esta Tesis se ha abordado el estudio del tratamiento de caqui con altas presiones hidrostáticas y la evaluación de diferentes parámetros que caracterizan la pared celular, con la finalidad de avanzar en el conocimiento de esta tecnología sobre los componentes de fibra alimentaria de este fruto para así poder plantear una estrategia de potencial desarrollo de un ingrediente alimentario con carácter funcional.

El caqui (*Diospyros kaki* Thunb.), especie ampliamente extendida por los países asiáticos, comenzó a ser cultivado en España como árbol ornamental, hasta que posteriormente su cultivo derivó en la obtención de un fruto para consumo en fresco de sabor agradable. El caqui tiene una gran importancia nutricional debido a su alto contenido en vitaminas, carotenoides, ácidos orgánicos y fibra, y también es una buena fuente de compuestos fenólicos, que están implicados en la reducción de enfermedades degenerativas por sus propiedades antioxidantes, actividad antidiabética y por presentar efectos hipolipidémicos (Matsumoto y col., 2011). Por lo tanto, este fruto se puede considerar como idóneo para una alimentación saludable.

El cultivo del caqui se ha centralizado en la región mediterránea y ha ido aumentando progresivamente, siendo en España la Comunidad Valenciana la mayor productora con un 83%, donde la variedad “*Rojito Brillante*” es la más cultivada (90% de la producción). El aumento actual en la producción de caqui genera un mayor volumen de destrío, lo que significa frutos que no son utilizados para el consumo en fresco, y que deben ser procesados para la elaboración de productos de caqui con alto contenido en compuestos funcionales como vitaminas, fibra y polifenoles. Sin embargo, el procesado industrial del caqui y sus destríos resulta complicado, ya que el caqui contiene, por un lado, altos niveles de fenoles que provocan astringencia y, por otro, elevada proporción de sustancias pécticas que conlleva alta viscosidad del producto triturado, condicionando dicho procesado (Chen y col., 2015; Jiménez-Sánchez y col., 2015). En este sentido, sólo existen estudios que muestran que el caqui de variedad

“Rojo Brillante” podría emplearse para elaborar zumos (González y col., 2015; Jiménez-Sánchez y col., 2015) y batidos (Hernández-Carrión y col., 2014a, 2015).

En definitiva, es preciso buscar estrategias que mejoren la gestión de dichos caquis, incrementando así la rentabilidad de este fruto. Una vía alternativa podría ser la posible producción de fibra a partir de caqui, lo que resultaría interesante para aumentar su valor añadido. En los últimos años, la obtención de nuevos nutracéuticos e ingredientes alimentarios orientados al desarrollo de nuevos alimentos funcionales puede ser una forma de contribuir a mejorar la calidad nutricional de los productos alimenticios y, por tanto, ayudar a mantener la salud de los consumidores.

El equilibrio entre calidad, seguridad y larga vida útil de los alimentos demandado por los consumidores supone implantar en la industria alimentaria nuevas técnicas de procesado que no afecten de manera apreciable a las características nutricionales y organolépticas de los alimentos, como degradación de vitaminas, color y sabor que sí se producen al tratar los alimentos con los tradicionales métodos térmicos (Anthon y Barrett, 2012). Estas nuevas técnicas se conocen como métodos no térmicos y se desarrollan como alternativa a la pasteurización y esterilización, con el objetivo de obtener alimentos microbiológicamente seguros, con satisfactorias propiedades sensoriales, físico-químicas y nutricionales, y con mayor vida útil; entre estas técnicas se encuentran las altas presiones hidrostáticas (APH), que se han venido utilizando progresivamente a lo largo de los últimos 15 años y son muy aceptadas por los consumidores (Cardello y col., 2007).

Las APH mantienen el valor nutricional y las propiedades sensoriales de las frutas y hortalizas, ya que no afectan a la estructura primaria de moléculas de bajo peso molecular (ej. vitaminas, péptidos, lípidos y sacáridos), puesto que los enlaces covalentes se comprimen poco a presiones inferiores a 2000 MPa (Heinz y Buckow, 2010). Sin embargo, la calidad de las frutas y hortalizas procesadas con APH puede cambiar durante el almacenamiento, debido a las reacciones químicas y bioquímicas producidas cuando el tratamiento de APH no inactiva completamente las enzimas endógenas y los microorganismos. Las APH degradan la célula, lo que facilita que existan reacciones enzimáticas y no enzimáticas (Oey y col., 2008a) que pueden modificar los polímeros de la pared celular, afectando así a la textura de frutas y hortalizas. Asimismo, las APH incrementan la capacidad antioxidante y mejoran la bioaccesibilidad de minerales y carotenoides, así como de polifenoles (Briones-Labarca y col., 2011; Escobedo-Avellaneda y col., 2011).

Por lo tanto, resulta de interés la aplicación de la tecnología de altas presiones hidrostáticas en el fruto de caqui para avanzar, con especial enfoque, hacia el conocimiento de las modificaciones de los parámetros que caracterizan la pared celular y, en particular, hacia la influencia que este tipo de procesamiento ejerce sobre la cantidad y composición de la fibra alimentaria, fracción de considerable interés desde el punto de vista de sus efectos fisiológicos, así como por sus propiedades tecnofuncionales.

Objetivos

Las altas presiones hidrostáticas producen cambios en la estructura de los tejidos vegetales, lo que conlleva alteración de sus propiedades físico-químicas, que influyen de manera directa en el procesado o incorporación de los mismos a otros productos alimenticios. La mayoría de los estudios realizados sobre el potencial y limitaciones del procesado de alimentos mediante altas presiones hidrostáticas se han centrado en la inactivación microbiana y enzimática. Sin embargo, el efecto que esta tecnología ejerce sobre los compuestos que constituyen las paredes celulares y otros parámetros relacionados con ellas, no se ha estudiado aún en profundidad. En este sentido, el planteamiento de la presente memoria encuentra como eje principal, la aplicación de la tecnología de altas presiones hidrostáticas a caquis, lo que podría permitir un posible incremento en la calidad y/o valorización de estos frutos.

En esta Tesis doctoral se ha abordado como **objetivo general** el estudio del tratamiento de caqui con altas presiones hidrostáticas y la evaluación de diferentes parámetros que caracterizan la pared celular, con la finalidad de avanzar en el conocimiento de esta tecnología, principalmente sobre los componentes de fibra alimentaria en este fruto, para así plantear una estrategia de potencial desarrollo de un ingrediente alimentario con carácter funcional.

Para la consecución del objetivo general se plantean los siguientes **objetivos específicos**:

- Evaluación de la influencia de las altas presiones hidrostáticas en caquis “*Rojito Brillante*” de distinto grado de maduración y astringencia sobre diferentes indicadores de la pared celular (fibra alimentaria, residuo insoluble en alcohol, actividades enzimáticas relacionadas con la maduración, ...) junto al estudio de las propiedades tecnofuncionales.
- Efecto de los tratamientos combinados de altas presiones hidrostáticas a diferentes temperaturas sobre los parámetros anteriormente mencionados que caracterizan la pared celular.
- Impacto del almacenamiento a temperaturas de refrigeración sobre las paredes celulares de caquis tratados con altas presiones hidrostáticas, junto al estudio de las propiedades tecnofuncionales.

Antecedentes

1. PARED CELULAR VEGETAL

1.1. DEFINICIÓN Y ESTRUCTURA FÍSICO-QUÍMICA

La pared celular es una estructura macromolecular compleja que rodea las células de los tejidos vegetales y que está constituida principalmente por polisacáridos, proteínas y compuestos aromáticos, donde los polisacáridos se clasifican en celulosa, hemicelulosas y pectinas. La estructura de la pared celular se modifica continuamente para adaptarse a la etapa de desarrollo del tejido y a las condiciones ambientales (Caffall y Mohnen, 2009), y en ella se distinguen tres zonas bien definidas: la lámina media y las paredes primaria y secundaria (Raven y col., 1992) (Figura 1).

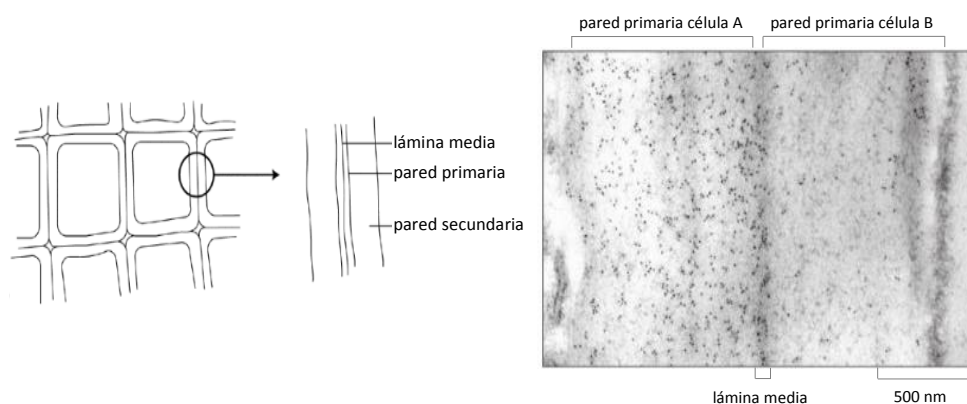


Figura 1. Localización de la lámina media y de las paredes primaria y secundaria (Albersheim y col., 2010; Beck, 2010).

Por un lado, la lámina media y la pared celular primaria se desarrollan durante el crecimiento inicial y la expansión de la célula vegetal. La lámina media es la parte externa y está constituida principalmente por polisacáridos pécticos y proteínas (Carpita y McCann, 2000), mientras que la pared primaria, caracterizada por ser flexible y más gruesa que la lámina media, se compone principalmente de pectinas, celulosa y hemicelulosas, con pequeñas cantidades de proteínas (10%). En dicotiledóneas, los polisacáridos no celulósicos mayoritarios son los polisacáridos pécticos (Caffall y Mohnen, 2009).

Por otro lado, la pared celular secundaria suele ser más gruesa y rígida que la pared primaria, y proviene del engrosamiento de ésta, junto con la incorporación de lignina, que tiene lugar sobre la zona interior de la pared primaria (Lewis y Yamamoto 1990; Harris y Smith, 2006; Gross, 2008). Esta pared se forma cuando la célula deja de

crecer, y contiene principalmente celulosa, junto con otros polisacáridos, lignina y pequeñas cantidades de proteína (Carpita y McCann, 2000; Vorwerk y col., 2004); no obstante cabe destacar que, en comparación con la pared primaria, la pared secundaria tiene cantidades relativamente más bajas de pectinas y más altas de celulosa.

Es importante tener en cuenta que la composición de la pared celular vegetal cambia significativamente entre especies y tipos de célula (Harris, 2005). La pared celular típica de dicotiledóneas contiene 30% de celulosa, 30% de hemicelulosas, 35% de pectinas y entre 1-5% de proteínas estructurales, mientras que las gramíneas suelen contener 25% de celulosa, 55% de hemicelulosas y sólo un 10% de pectinas (Cosgrove, 1997). No obstante, todas las paredes celulares tienen una estructura básica similar, que consiste en una fase fibrilar de celulosa y una matriz compuesta mayoritariamente por polisacáridos no celulósicos, proteínas estructurales y compuestos fenólicos, incluyendo lignina (Harris y Smith, 2006).

- **Polisacáridos**

Celulosa

La celulosa es un polímero no ramificado de residuos de D-glucosa (D-Glcp) unidos por enlaces glucosídicos β -(1 \rightarrow 4) (Figura 2). Estas cadenas de glucosa se empaquetan paralelamente entre sí mediante enlaces de hidrógeno (Nishiyama y col., 2002), creando así un material cristalino insoluble de microfibrillas de aproximadamente 3 nm de diámetro (Vorwerk y col., 2004; Jarvis, 2011).

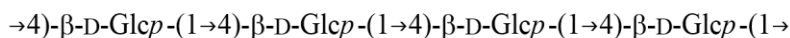


Figura 2. Representación esquemática de la estructura de la celulosa.

Hemicelulosas

Las hemicelulosas son polímeros capaces de establecer enlaces de hidrógeno con la superficie de las microfibrillas de celulosa (Zykwinska y col., 2005, 2008; Jarvis, 2009). Las principales hemicelulosas encontradas en la pared celular primaria de muchas plantas son xiloglucanos, glucomananos y arabinoxilanos (Harris y Smith, 2006; Fukuda, 2014). Los xiloglucanos (Figura 3) son especialmente abundantes en la pared celular primaria de dicotiledóneas (Popper y col., 2011), donde presentan una cadena principal de unidades de glucosa (β -1,4-D-Glcp) con ramificaciones de residuos

individuales de xilosa (α -D-Xilp) en el carbono C-6 (Harris y Smith, 2006; Gilbert, 2010); aproximadamente la mitad de esta xilosa contiene cadenas laterales de galactosa (β -D-Galp) o de fucosa y galactosa (α -L-Fucp-1,2- β -D-Galp) (Harris, 2005).

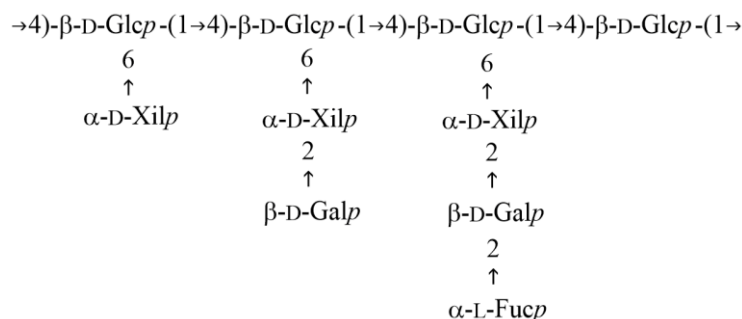


Figura 3. Representación esquemática de la estructura del xiloglucano.

Polisacáridos pécticos (pectinas)

Las pectinas son los polisacáridos con la estructura y funcionalidad más complejas de la pared celular (Mohnen, 2008). Son polímeros ricos en ácido galacturónico (D-AGalp), unido covalentemente mediante enlaces α -(1 \rightarrow 4) (Albersheim y col., 1996; Mohnen, 2008). Constituyen entre el 20-50% de la pared celular (McCann y col., 2001), ya que están muy presentes tanto en la lámina media como en la pared primaria (\sim 35% en dicotiledóneas). Asimismo, cabe señalar que los polisacáridos pécticos establecen, a través de las cadenas laterales de arabinano y galactano, enlaces de hidrógeno con las microfibrillas de celulosa (Zykwinska y col., 2005, 2007, 2008).

Estos polisacáridos se clasifican en galacturonanos (homogalacturonanos, galacturonanos sustituidos) y ramnogalacturonano-I (RG-I) (Ridley y col., 2001; Willats y col., 2006; Caffall y Mohnen, 2009), siendo los homogalacturonanos y ramnogalacturonanos-I las pectinas más abundantes (Harris y Smith, 2006).

➤ Homogalacturonano

El homogalacturonano (HG) es la pectina mayoritaria, ya que puede suponer más del 60% del contenido de polisacáridos pécticos presentes en la pared celular (Mohnen, 2008). Es un polímero lineal de ácido galacturónico (D-AGalp) unido mediante enlaces glucosídicos α -(1 \rightarrow 4) (Figura 4) (Coenen y col., 2007), encontrado tanto formando tramos largos (\sim 100 residuos de D-AGalp) (Thibault y col., 1993) como regiones cortas intercaladas entre otros polisacáridos pécticos (Nakamura y col., 2002).

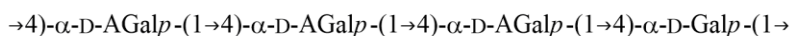


Figura 4. Representación esquemática de la estructura del homogalacturonano (HG).

Los residuos de ácido galacturónico de este polisacárido péctico pueden estar metilesterificados en el carboxilo del carbono C-6, o acetilados en la posición O-2 u O-3 (Ridley y col., 2001) (Figura 5a). Los grados de metilesterificación y acetilación varían entre especies (Willats y col., 2001); los HGs están muy acetilados en especies como la patata y la remolacha azucarera (Turquois y col., 1999). En relación a esto, las pectinas pueden clasificarse en función de su grado de metilesterificación (GM), como pectinas de alto metoxilo (GM $\geq 50\%$) y pectinas de bajo metoxilo (GM $< 50\%$) (Rinaudo, 1996).

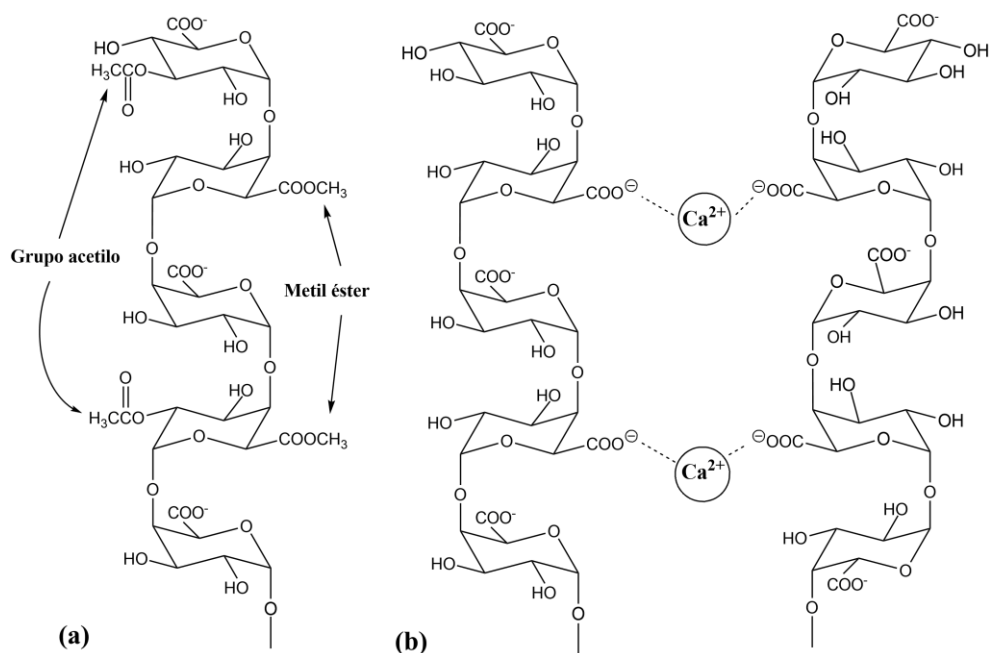


Figura 5. (a) Estructura del homogalacturonano (HG), con grupos acetilo y ácidos carboxílicos esterificados con metanol (metil éster); estructura de Ridley y col. (2001) modificada. (b) “Modelo de caja de huevos” en el que dos HGs interaccionan con el calcio; estructura de Caffall y Mohnen (2009) modificada.

Una característica importante de los HGs es su capacidad para formar geles estables, lo que ocurre cuando los HGs interaccionan entre sí creando una red cristalina tridimensional en la que agua y solutos quedan atrapados. Esta capacidad de gelificación depende de factores como la temperatura, tipo de pectina, grado de

metilesterificación, grado de acetilación, pH, presencia de azúcares, otros solutos y calcio (Willats y col., 2006). En el caso de las pectinas de alto GM, los HGs se mantienen unidos mediante enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas, promovido por la presencia de altas concentraciones de azúcares y pHs bajos, mientras que en las pectinas de bajo GM, la unión entre HGs es debida a la interacción iónica que se establece entre los cationes calcio (Ca^{2+}) y los grupos carboxilo libres de los ácidos galacturónicos (Liners y col., 1989; Harris y Smith, 2006). Este complejo HG-calcio se conoce como “*modelo de caja de huevos*” (Jarvis, 1984), y describe el compacto empaquetamiento producido tras la gelificación inducida por el calcio (Figura 5b). A este respecto se debe señalar que, para obtener interacciones estables, es necesario que existan al menos 10 residuos contiguos de ácido galacturónico desesterificado (Liners y col., 1992). Esta formación de geles pécticos en los que el calcio está implicado, se ha constatado en estudios realizados *in vitro* con pectinas desesterificadas de cítricos y adición de sales (Yoo y col., 2003).

En la preparación de pectinas comerciales, algunas de las pectinas más utilizadas provienen de la piel de limones (*Citrus limon*) y limas (*Citrus aurantifolia*), y de la pulpa de manzanas (*Malus domestica*), subproductos de la elaboración de zumos. Estas pectinas son de alto metoxilo y gelifican a pH bajo ($<3,5$) en presencia de altas concentraciones de sólidos solubles como sacarosa ($>55\%$). Sin embargo, la producción de pectinas de bajo metoxilo es más reducida; estas pectinas gelifican sin la presencia de sacarosa, pero en presencia de cationes calcio cuando el pH está entre 2 y 6 (Thibault y Ralet, 2003).

La conversión de HG metilesterificado en HG cargado negativamente se ha asociado con el fin del crecimiento, con la unión de iones con carga positiva y proteínas a la pared celular, y con la asociación de moléculas de HG entre sí a través de cationes Ca^{2+} (Derbyshire y col., 2007; Mohnen, 2008).

➤ Ramnogalacturonano-II: galacturonano sustituido

El ramnogalacturonano-II (RG-II) es un HG sustituido que está presente en la pared celular de todos los vegetales (Caffall y Mohnen, 2009), y que constituye un pequeño porcentaje (1-4%) del total de polisacáridos pécticos (O'Neill y col., 2004).

La estructura del RG-II es extraordinariamente compleja y sólo cambia ligeramente entre diferentes especies (Harris, 2009). Se corresponde con un tramo de la estructura del HG, de al menos 8 residuos de ácido galacturónico, ramificada con cuatro cadenas

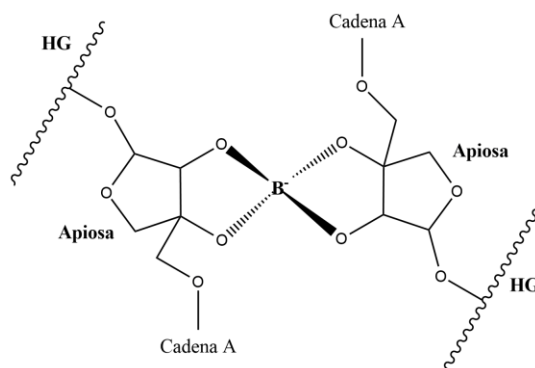


Figura 7. Unión de dos RG-II a través de la apiosa de las cadenas A. Estructura de Vincken y col. (2003) modificada.

➤ Xilogalacturonano: otro galacturonano sustituido

El xilogalacturonano (XGA) es un HG sustituido con cadenas laterales de xilosa (β -D-Xilp) en el carbono C-3 de los residuos de ácido galacturónico (Visser y Voragen, 1996; O'Neill y York, 2003). Esta sustitución puede ser sólo de xilosa o de xilosa ramificada en el carbono C-4 por otro residuo de xilosa (Figura 8) (Zandleven y col., 2006; Caffall y Mohnen, 2009). Los residuos de ácido galacturónico de esta pectina pueden estar metilesterificados como en el HG (Schols y col., 1995).

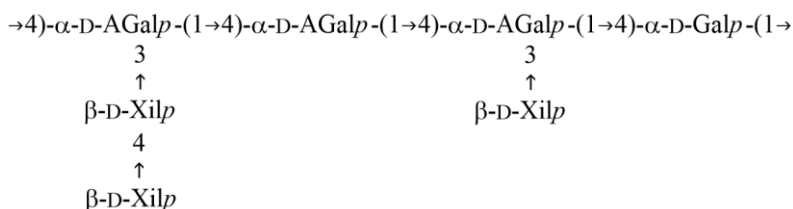
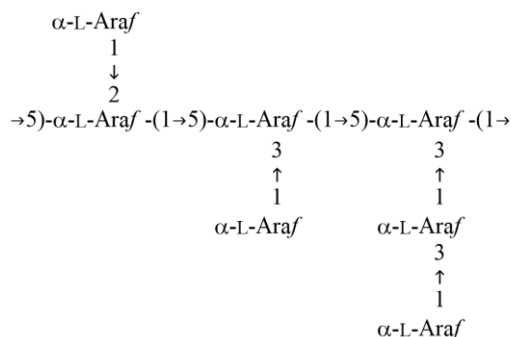


Figura 8. Representación esquemática de la estructura del xilogalacturonano (XGA).

➤ Ramnogalacturonano-I

El ramnogalacturonano-I (RG-I) representa en torno al 20-35% del contenido total de polisacáridos pécticos (Mohnen, 2008), y consiste en una cadena lineal de residuos alternos de ácido D-galacturónico y L-ramnosa que pueden estar acetilados en O-2 y O-3 (Vincken y col., 2003), donde el disacárido $[\alpha\text{-D-AGal}p\text{-1,2-}\alpha\text{-L-Rhap-1,4}]_n$ se puede repetir más de 100 veces (Visser y Voragen, 1996; Mohnen, 2008). Hasta el 80% de la ramnosa está ramificada en el O-4 (Visser y Voragen, 1996) por residuos



El AG-I está compuesto por una estructura principal de galactosa (β -D-Galp-1,4) a la que se unen residuos de arabinosa (α -L-Araf) en el O-3 (Lau y col., 1985; Ridley y col., 2001; Mohnen, 2008), mientras que el arabinano consiste en una estructura principal de arabinosa (α -L-Araf-1,5) que puede tener cadenas laterales de arabinosa (α -L-Araf) en O-2 y/o O-3 (Ridley y col., 2001). En relación a estos polisacáridos pécticos, estudios realizados en manzana, remolacha azucarera, soja, patata y caqui, han mostrado que las estructuras de las cadenas laterales de galactano y arabinano de los RG-I son muy heterogéneas entre sí; la composición y longitud de las cadenas laterales varía dependiendo de la especie y tipo de célula (Schols y col., 1994; Sakamoto y Sakai, 1995; Huisman y col., 2001; Duan y col., 2003; Øbro y col., 2004).

Se han propuesto dos modelos estructurales para explicar la manera en la que las distintas pectinas se unen en la pared primaria para constituir la matriz péctica. El primer modelo considera que las pectinas se disponen en serie, estableciendo enlaces glucosídicos entre sus cadenas principales (Figura 10a) (Ishii y Matsunaga, 2001; Nakamura y col., 2002; Coenen y col., 2007). Sin embargo, el segundo modelo indica que el RG-I actúa como cadena principal y tiene como cadenas laterales los polisacáridos HG, xilogalacturonano y RG-II unidos mediante enlaces covalentes (Figura 10b) (Oechslin y col., 2003; Vincken y col., 2003).

- **Fenoles**

Además de los polisacáridos, las paredes celulares del parénquima contienen ácidos hidroxycinámicos como el ácido ferúlico, unidos a ciertos polisacáridos mediante enlaces éster (Harris y Smith, 2006). En remolacha azucarera y espinaca, se ha constatado que estos ácidos están esterificados con las cadenas laterales arabinano y galactano del polisacárido péctico ramnogalacturonano-I (Smith y Harris, 2001).

- **Lignina**

La lignina es un polímero hidrofóbico heterogéneo, resultado de la polimerización oxidativa de monolignoles, principalmente alcoholes coniferílico, sinapílico y cumárico, así como de otros monómeros fenólicos (Hatfield y Fukushima, 2005; Harris y Smith, 2006; Gilbert, 2010). Este polímero se une a los polisacáridos no celulósicos de la pared celular mediante enlaces éster y éter (Ralph y col., 2004).

Cabe señalar que la presencia de lignina restringe o previene completamente la degradación de polisacáridos pécticos llevada a cabo por las enzimas presentes en el colon (Harris y Smith, 2006).

- **Proteínas estructurales**

Las proteínas estructurales actúan como soporte de las largas cadenas de polisacáridos, manteniendo así la forma de la pared celular primaria (O'Neill y York, 2003). Estas proteínas también se conocen como glicoproteínas, ya que contienen cadenas de oligosacáridos, donde los azúcares principales son arabinosa y galactosa (Johnson y col., 2003); las proteínas mayoritarias de la pared celular son las extensinas, ricas en el aminoácido hidroxiprolina (Cosgrove, 2001).

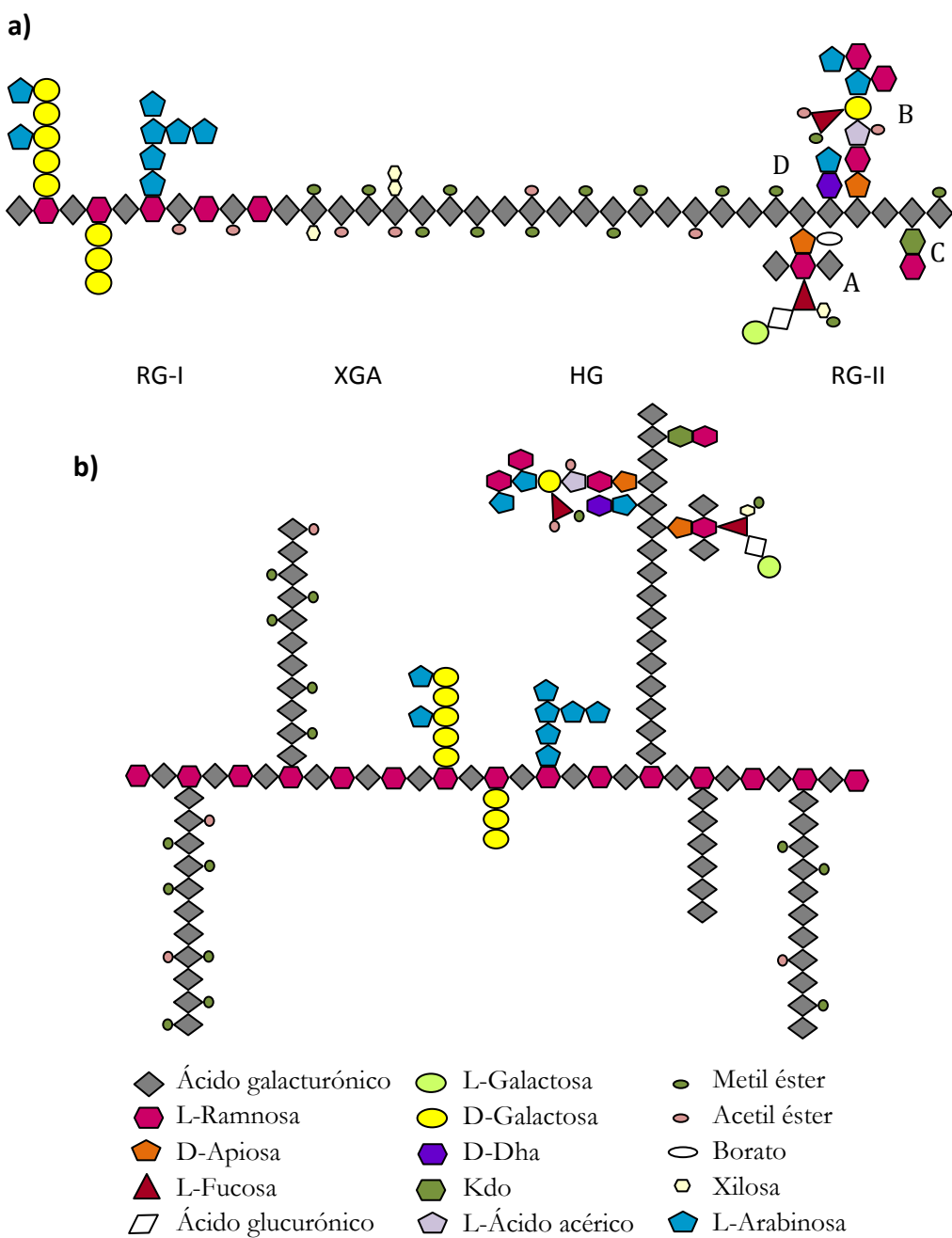


Figura 10. Estructura esquemática que muestra los polisacáridos pécticos homogalacturonano (HG), ramnogalacturonano-II (RG-II), xilogalacturonano (XGA) y ramnogalacturonano-I (RG-I) unidos entre sí (a) en serie y (b) con el RG-I como cadena principal. Estructuras de Willats y col. (2006) y Mohnen (2008), modificadas.

- **Cutina, suberina y ceras**

La cutina, suberina y las ceras son compuestos que ejercen una acción impermeabilizante en la pared celular (Molina y Martín, 2007). La cutina y la suberina son polímeros de ácidos grasos (Li-Beisson, 2011), mientras que las ceras son mezclas de ácidos, alcoholes, ésteres, aldehídos, alcanos y cetonas (Walton, 1990; Jetter y col., 2006).

1.2. MODELO ESTRUCTURAL DE LA PARED PRIMARIA

El primer modelo descrito para paredes celulares primarias mostraba que los xiloglucanos establecían enlaces de hidrógeno con las microfibrillas de celulosa, mientras las pectinas se unían a los xiloglucanos y a la glicoproteína extensina mediante enlaces covalentes (Keegstra y col., 1973). Sin embargo, los estudios realizados hasta el momento son contradictorios respecto a la existencia de enlaces covalentes entre pectinas y xiloglucanos (Cumming y col., 2005; Popper y Fry, 2007; Zykwincka y col., 2008). Posteriormente, Carpita y Gibeaut (1993) establecieron un modelo que implicaba interacciones no covalentes entre los polímeros de la pared celular, y sugería la existencia de dos redes independientes que interactuaban entre sí; una red xiloglucano-celulosa embebida en una red péctica. Estas dos redes permanecían unidas por proteínas estructurales.

Estudios más recientes (Zykwincka y col., 2005) han encontrado que la matriz péctica puede interaccionar con la celulosa, a través de sus cadenas laterales de azúcares neutros. Esto explicaría que en especies vegetales en las que existe poca presencia de xiloglucanos, pero cantidades elevadas de pectinas (ej. apio, cebolla y zanahoria), sean éstas últimas las que interaccionan con la celulosa, manteniendo la estructura de la pared celular (Zykwincka y col., 2006, 2007, 2008). Así, se establece un modelo (Figura 11) en el que las redes xiloglucano-celulosa, pectina-celulosa y pectina-xiloglucano están presentes en la pared celular primaria de dicotiledóneas (Zykwincka y col., 2007). No obstante, en paredes primarias con gran cantidad de xiloglucanos, las pectinas ocupan los intersticios de la red xiloglucano-celulosa, y son los xiloglucanos los que interaccionan con las microfibrillas de celulosa (Zykwincka y col., 2008).

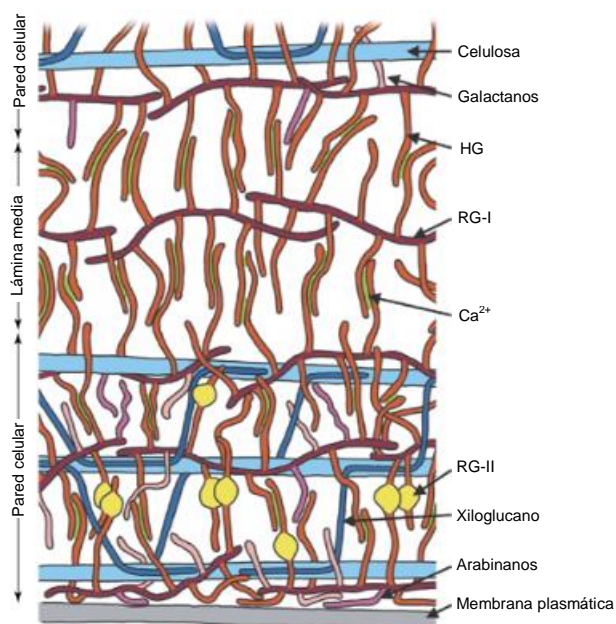


Figura 11. Organización de los polisacáridos en la pared celular vegetal (Vorwerk y col., 2004).

Por lo tanto, un buen modelo de pared celular debe mostrar el alto grado de reticulación de la pared celular, donde las redes xiloglucano-celulosa, pectina-celulosa, pectina-pectina, pectina-xiloglucano, pectina-fenoles y pectina-proteína proporcionan una pared celular cohesionada (Caffall y Mohnen, 2009).

1.3. FUNCIONES DE LA PARED CELULAR

La pared celular es esencial para el buen crecimiento y desarrollo de las plantas, debido a que contribuye a su integridad estructural, expansión y adhesión celular y, además, participa en respuestas de defensa (Bidlack y col., 1992; Raven y col., 1992; Carpita y McCann, 2000; McCann y col., 2001). En concreto, las paredes primaria y secundaria contribuyen a la integridad estructural (Raven y col., 1992; Fukuda, 2014), y tanto la lámina media como la pared primaria tienen la capacidad de mantener unidas células adyacentes (Carpita y McCann, 2000). Además, la pared primaria está implicada en las señales de transducción (Fukuda, 2014). Asimismo, la pared celular determina las relaciones entre la presión de turgencia y el volumen celular, actúa como barrera que limita el tamaño de las macromoléculas que pueden alcanzar la membrana plasmática y es, por tanto, la principal barrera estructural para la invasión de patógenos. También se ha demostrado que los oligosacáridos de la pared celular pueden actuar como

moléculas de señalización durante la diferenciación celular y el reconocimiento de patógenos (Taiz y Zeiger, 2006).

Entre los constituyentes de la pared celular cabe señalar los polisacáridos pécticos, que además de contribuir a la resistencia mecánica, adhesión celular, función estomática y respuesta de defensa de la pared primaria (Caffall y Mohnen, 2009) sirven como polímeros gelificantes y estabilizantes en los alimentos (Mohnen, 2008). Debido a su importancia fisiológica, se describen a continuación de una manera detallada dichas funciones:

- **Resistencia mecánica**

Tanto los complejos HG-calcio como los complejos RG II-boro están implicados en la resistencia de la pared celular. En el primer caso, los enlaces iónicos entre HG y calcio contribuyen a mejorar la resistencia de la pared celular al conseguir que cadenas desesterificadas de HG se empaqueten en una conformación hermética, que depende de las tres características siguientes: conformación intramolecular del HG, separación de carga entre dos moléculas de ácido galacturónico en la cadena de HG, y eficiencia con la que las cadenas de HG se empaquetan entre sí (Yoo y col., 2003; Caffall y Mohnen, 2009).

En relación a estas interacciones HG-calcio, se ha encontrado que tanto la disminución de la capacidad de expansión de la pared celular como el aumento de la rigidez de la pared están directamente relacionados con la reducción de las cadenas laterales de arabinanos y galactanos del polisacárido péctico RG-I y con el incremento de los complejos HG-calcio; la pérdida de las cadenas laterales de los RG-I coincide con la desesterificación de los componentes pécticos, facilitando la formación de complejos HG-calcio (Stolle-Smits y col., 1999; Caffall y Mohnen, 2009).

Atendiendo a los complejos RG II-boro, en los que el elemento metaloide está implicado en la formación reversible de dímeros constituidos por dos moléculas de RG-II, la resistencia mecánica debida a estos complejos RG II-boro tiene un importante papel en la capacidad de expansión de la pared celular vegetal. La ruptura de estos complejos RG II-boro conlleva la falta de capacidad de expansión, originando así plantas de poco tamaño y defectos en la reproducción del tejido reproductivo (Iwai y col., 2002, 2006).

- **Adhesión celular**

La adhesión celular en tejidos vegetales está relacionada con la presencia de complejos HG-calcio, polisacáridos RG-I ramificados y dímeros de RG-II, y se reduce cuando la cantidad de éstos es insuficiente (Caffall y Mohnen, 2009).

- **Función estomática**

Los arabinanos de los RG-I y los complejos HG-calcio están implicados en la apertura/cierre de los estomas. Los arabinanos forman ésteres con ácidos ferúlicos, y esto conlleva que las moléculas de RG-I creen dímeros entre sí y que los estomas se abran. Sin embargo, cuando la enzima arabinasa elimina los enlaces con el ácido ferúlico, se favorece la formación de complejos HG-calcio y los estomas se cierran (Jones y col., 2003; Zykwincka y col. 2005).

1.4. ENZIMAS DE LA PARED CELULAR

Durante la maduración y almacenamiento, así como en el procesado (ej. troceado, homogeneización), la pared celular de los frutos puede sufrir cambios que están asociados con la disolución de la lámina media y la desorganización de la pared celular primaria (Goulao y Oliveira, 2008). Estos cambios consisten principalmente en procesos de solubilización, desesterificación y despolimerización; se trata de conversiones enzimáticas y no enzimáticas que se producen en los polisacáridos pécticos (Figura 12) y que condicionan la funcionalidad de éstos, tanto en los frutos como en alimentos derivados de los mismos (Alonso y col., 1997; Sila y col., 2008; Jolie y col., 2012).

La solubilización queda reflejada en un descenso del contenido total de pectinas de la pared celular, que puede producirse porque la matriz péctica pierde cohesividad, es decir, no hay unión entre las cadenas de pectinas, o bien, porque los azúcares neutros de las cadenas laterales se pierden (Seymour y col., 1990; Redgwell y col., 1992). Por otra parte, la desesterificación conlleva reducción de la cantidad de ésteres metílicos, mientras que la despolimerización implica disminución del tamaño molecular de las pectinas (Ali y col., 2004; Nunes y col., 2008).

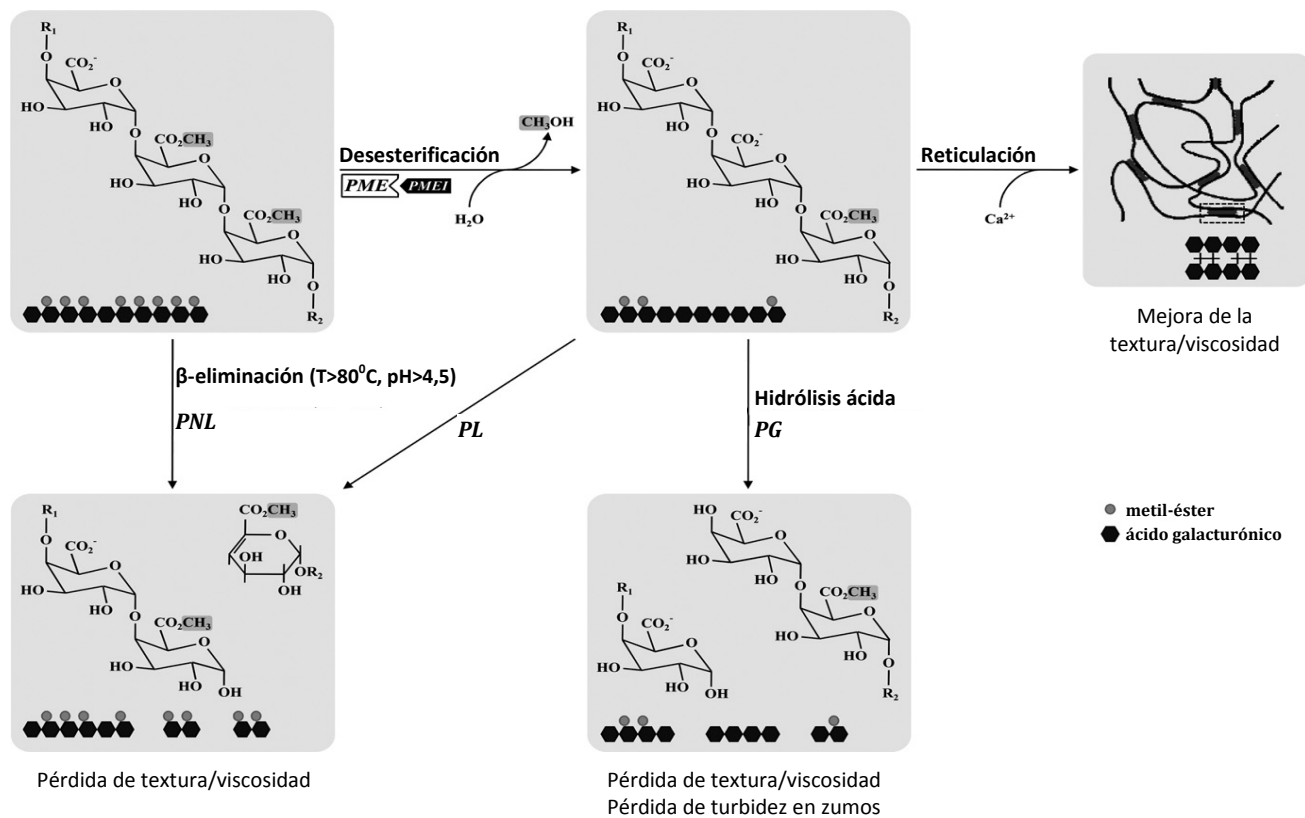


Figura 12. Conversiones enzimáticas y no enzimáticas de la cadena de homogalacturonano de las pectinas. PME: pectinmetilesterasa; PMEI: inhibidor de la PME; PNL: pectin liasa; PL: pectato liasa; PG: poligalacturonasa; R1/R2: fragmentos iniciales y terminales de la pectina. Esquema de Jolie y col. (2012) modificado.

En relación a estos tres procesos de degradación que sufren las pectinas, las enzimas pectinmetilesterasa (PME) y poligalacturonasa (PG) catalizan las reacciones enzimáticas de desesterificación y despolimerización, respectivamente, y la PG no tiene por qué estar implicada en el proceso de solubilización, ya que en algunos frutos existe solubilización a pesar de no detectarse actividad PG (Cutillas-Iturralde y col., 1993; Huber y col., 2001; Goulao y Oliveira, 2008). Según muestran Sila y col. (2008), las enzimas PME y PG se vuelven extremadamente activas en el tejido en respuesta a la maduración y a la degradación del tejido. De este modo, las enzimas PME y PG parecen estar involucradas en cambios de textura (ablandamiento y aumento de firmeza) de frutos y productos derivados (Alonso y col., 1997; Deytieux-Belleau y col., 2008; Sila y col., 2008; Jolie y col., 2010), así como en la pérdida de turbidez de productos de fruta triturada (Jolie y col., 2010, 2012; Bodelón y col., 2013).

- **Pectinmetilesterasa (PME)**

La pectinmetilesterasa (PME, E.C. 3.1.1.11) es una enzima que desesterifica polisacáridos pécticos y que está unida a la pared celular mediante interacciones electrostáticas; se localiza junto a las pectinas, aunque se desconoce si está directamente unida a ellas o si se sitúa en sus proximidades (Glover y Brady, 1995; Morvan y col., 1998; Jolie y col., 2010).

Aunque existen varias posibilidades en relación al modo de acción de la PME, las opciones más probables son las siguientes: (a) “*Mecanismo de cadena individual*”, en el que la enzima se une al sustrato y desesterifica gradualmente todos los grupos metilo contiguos de la cadena de HG, y (b) “*Mecanismo de ataque múltiple*”, donde la enzima cataliza la conversión de un número limitado de residuos en cada uno de los ataques (Ciardiello y col., 2004; Duvetter y col., 2006). En cualquier caso, independientemente del modo de acción, para que la PME pueda actuar son necesarios grupos carboxílicos libres en las proximidades del sitio activo (Bordenave, 1996; Fries y col., 2007), lo cual explica que la PME tenga preferencia por las pectinas parcialmente desesterificadas (Jolie y col., 2012). Además, el pH y la presencia de cationes son factores a tener en cuenta para regular la acción de la PME (Jolie y col., 2010).

Una misma enzima PME puede tener distintas isoformas, cuya proporción puede variar en función del estado de desarrollo y del órgano considerado. Todas las isoformas catalizan la misma reacción (Micheli, 2001), pero difieren en el punto isoelectrico, peso molecular, grado de glicosilación, termoestabilidad y/o propiedades

catalíticas (Jolie y col., 2010; de Souza y col., 2011). Como ejemplo, en el caqui existen dos isoformas, PME I y PME II, que pueden activarse al aumentar el número de cationes Ca^{2+} , y que suponen el 20 y 80% de la actividad total de la enzima PME, respectivamente (Alonso y col., 1997).

Por otra parte, en frutos como el kiwi existen inhibidores proteicos de la PME, capaces de inhibir su actividad porque forman un complejo reversible no covalente con la enzima (Draye y Van Cutsem, 2008; Jolie y col., 2010). Asimismo, compuestos no proteicos como taninos, ácidos fenólicos y azúcares también tienen capacidad de inhibir la actividad de la enzima PME (Jolie y col., 2010); la acción de la PME se reduce en presencia de taninos solubles, mientras que cuando los taninos se vuelven insolubles la actividad enzimática se incrementa (Asgar y col., 2003).

Por lo tanto, la acción de la PME conlleva que los contenidos de metanol libre y protones aumenten, y que la pectina quede parcialmente esterificada (Pelloux y col., 2007; Jolie y col., 2010; Bodelón y col., 2013). Como consecuencia, además de que el pH disminuye y la acción de la enzima PG se favorece, las propiedades de intercambio catiónico de la pared celular se modifican (Micheli, 2001; Ali y col., 2004; Nunes y col., 2008; Anthon y Barrett, 2012), de tal manera que se deberá favorecer la acción de la PME cuando se quiera mantener la firmeza de los frutos, pero será necesario reducir esta actividad enzimática si se preparan productos elaborados con fruta triturada (puré, zumo, ...) ya que, según muestran Bodelón y col. (2013), la formación de geles en este tipo de productos conlleva la separación en dos fases (líquido y gel). Dada la implicación de la PME en la esterificación de las pectinas, es esperable que los resultados de la actividad PME guarden cierta relación con los valores obtenidos para el grado de metilesterificación; por ejemplo, si el contenido de pectinas no varía, una disminución del GM indicaría que la actividad PME se ha incrementado.

- **Poligalacturonasa (PG)**

La poligalacturonasa (PG) rompe los enlaces α -(1-4)-D que unen dos residuos de ácido galacturónico adyacentes de pectinas poco metilesterificadas, y se encuentra en la pared celular (Qi y col., 2014). Esta enzima se clasifica como *endo* y *exo*; la endo-PG (E.C. 3.2.1.15) hidroliza la pectina de manera aleatoria, mientras que la exo-PG libera monómeros (E.C. 3.2.1.67) o dímeros (E.C. 3.2.1.82) de ácido galacturónico de los extremos de las cadenas de HG (Benen y Visser, 2003).

La acción de la PG reduce la adhesión intercelular, provocando así ablandamiento de los tejidos vegetales y cambios en la solubilidad/extractabilidad de las pectinas (Ng y Waldron, 1997; Sila y col., 2009). Esta fragmentación péctica puede ocasionar pérdida de viscosidad o consistencia, por ejemplo en pastas y purés elaborados a base de materias primas con niveles elevados de PG endógena como el tomate (Crelier y col., 2001; Jolie y col., 2012).

En definitiva, cuando el tejido está intacto las enzimas (PME, PG) y las pectinas metilesterificadas coexisten, lo que indica que las enzimas y sus sustratos están en distintos compartimentos celulares. Pero cuando el tejido se degrada, la PME y las pectinas interaccionan, y entonces se produce una rápida hidrólisis de los ésteres metílicos de la pectina. El deterioro del tejido también puede llevar consigo pérdida de la permeabilidad selectiva de la membrana plasmática, dando lugar a la difusión de cationes endógenos a la pared celular. El aumento en el número de cationes como el Ca^{2+} podría aumentar la desesterificación, así como facilitar la formación de geles, lo cual incrementaría la firmeza del fruto. Sin embargo, la PME también puede inducir el ablandamiento del fruto, al liberar en la pectina los sitios de acción de la enzima PG. Además, se debe tener en cuenta que en productos de fruta triturada, el hecho de que la actividad PME sea elevada puede resultar problemático para mantener el aspecto del producto, y por tanto la aceptación del mismo por el consumidor.

2. TANINOS CONDENSADOS

Los taninos condensados (proantocianidinas) son polifenoles poliméricos del grupo flavonoide, presentes en hortalizas y frutas como el caqui (Novillo y col., 2014; Watrelot y col., 2014). Su estructura consiste en flavan-3-oles unidos mediante enlaces interflavan carbono-carbono C(4)-C(8) o C(4)-C(6) (Figura 13) (Fine, 2000; Le Bourvellec y col., 2012; Bautista-Ortín y col., 2014).

Por lo tanto, las proantocianidinas se caracterizan por las unidades que las constituyen, los enlaces interflavan y el grado de polimerización (Quideau y col., 2011).

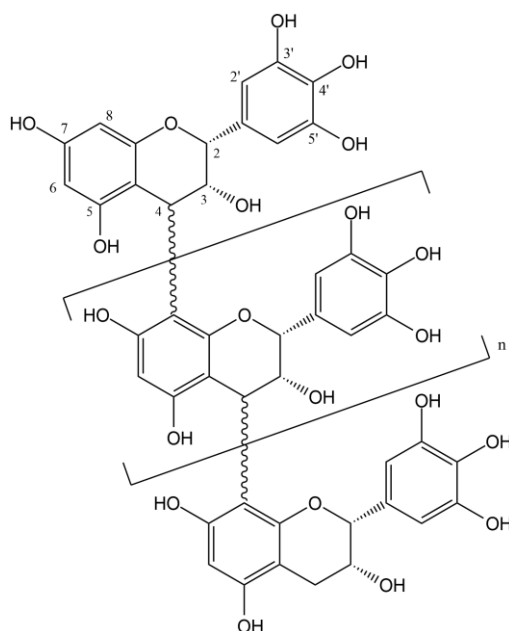


Figura 13. Tanino condensado (proantocianidina) de unidades de epigallocatequina.

Cuando las matrices vegetales están intactas, estos taninos se encuentran en la vacuola (Le Bourvellec y col., 2012; Watrelot y col., 2014). Sin embargo, en el caso de los frutos, la maduración y procesamiento implican ruptura del tejido vegetal, permitiendo que los compuestos contenidos en los orgánulos celulares y en el citoplasma entren en contacto con la matriz extracelular; las proantocianidinas salen de la vacuola e interaccionan con la pared celular (Renard y col., 2001; Le Bourvellec y col., 2012). En relación a esto, cabe señalar que como los taninos condensados tienen anillos aromáticos y estructuras altamente hidroxiladas, pueden formar complejos insolubles, tanto con proteínas como con polisacáridos (Le Bourvellec y col., 2009; Santos-Buelga y de Freitas, 2009), que dificultan su extracción y cuantificación (Mateos, 2013).

2.1. INTERACCIÓN TANINO-PARED CELULAR

Se ha observado que existen cantidades relativamente elevadas de taninos en la pared celular de los frutos, debido a la alta afinidad (fuerza de las uniones) entre los taninos y la pared celular (Geny y col., 2003; Hanlin y col., 2010). Así se ha constatado en estudios realizados en uva (Adams y Scholz, 2008), donde se muestra que la pared celular puede unir alrededor del 70% del contenido total de taninos, y que la extracción completa de los taninos asociados a la pared celular necesita un periodo de tiempo 14

veces mayor que el necesario para extraer los taninos presentes en la vacuola (Geny y col., 2003).

Por lo tanto, los polisacáridos de la pared celular de los frutos pueden interaccionar con proantocianidinas, tal como se corrobora en la literatura (McManus y col., 1985; Haslam, 1998; Le Bourvellec y col., 2005; Bautista-Ortín y col., 2014). Estas adsorciones tanino-pared celular son rápidas y espontáneas (Watrelet y col., 2013), y se establecen mediante uniones no covalentes como enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Le Bourvellec y col., 2004). El número de enlaces y la fuerza de estas interacciones dependen de la estructura y composición, tanto de la pared celular como de las proantocianidinas (McManus y col., 1985; Riou y col., 2002; Le Bourvellec y col., 2004; Bautista-Ortín y col., 2014). En relación a las interacciones tanino-pared celular, es interesante señalar que esta adsorción de proantocianidinas parece limitar la despolimerización enzimática de la pared celular (Le Bourvellec y col., 2009).

- **Enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas**

Los enlaces de hidrógeno y las interacciones hidrofóbicas son las principales fuerzas por las que las proantocianidinas y los polisacáridos de la pared celular se asocian (Hanlin y col., 2010), siendo estos mecanismos de unión similares a los encontradas entre taninos y proteínas (Figura 14) (McManus y col., 1985; Renard y col., 2001; Le Bourvellec y col., 2004).

La formación de enlaces de hidrógeno es un proceso competitivo en el que los enlaces más débiles pueden ser desplazados por enlaces más fuertes. Estos enlaces se establecen entre grupos hidroxilo de los taninos con: (a) grupos hidroxilo de los polisacáridos, (b) grupos acetilo de los polisacáridos y (c) átomos de oxígeno de enlaces glucosídicos (Hanlin y col., 2010) (Figura 15).

En relación a las interacciones hidrofóbicas, se ha encontrado que en un entorno acuoso el etanol puede disminuir la polaridad del medio, facilitando así la ruptura de interacciones hidrofóbicas tanino-pared celular (Le Bourvellec y col. 2004).

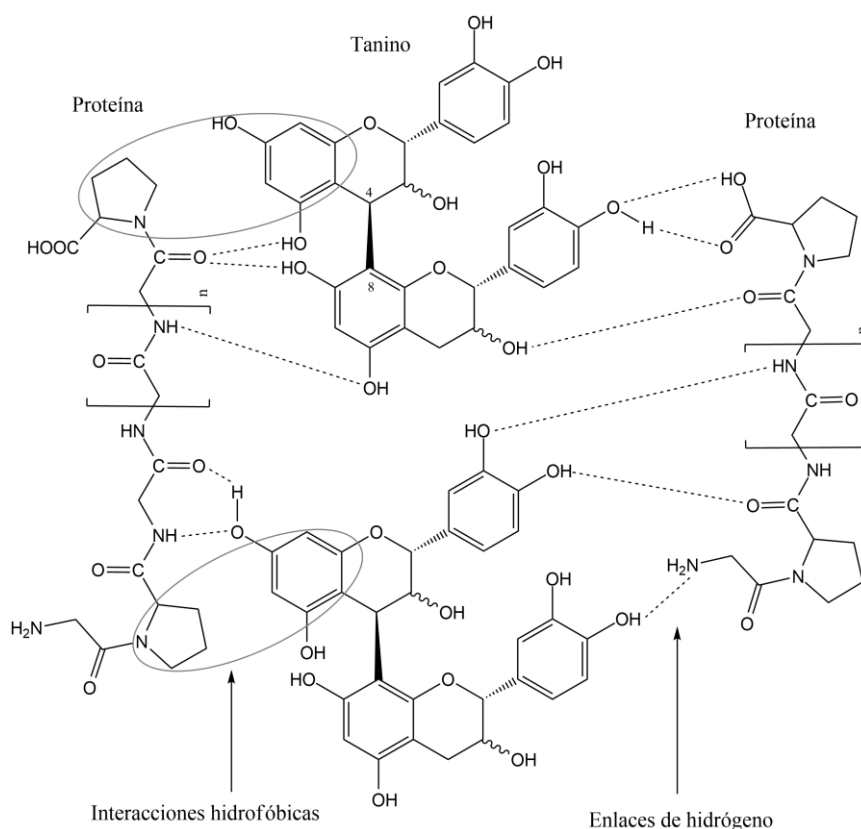


Figura 14. Interacción entre taninos y proteínas. Estructura de Santos-Buelga y de Freitas (2009) modificada.

- **Polisacáridos: influencia de su estructura/composición**

La capacidad de unión entre los taninos condensados y la pared celular está condicionada por la estructura y la composición de la pared celular (Hanlin y col., 2010).

Estructura

En relación a la estructura, la pared celular es una matriz porosa, con compartimentos hidrofílicos e hidrofóbicos, consecuencia de la estructura reticular creada por los polisacáridos (O'Neill y York, 2003). Esta estructura favorece que los taninos condensados se encapsulen dentro de la pared celular, creando fuertes complejos difícilmente disociables (de Freitas y col., 2003; Le Bourvellec y col., 2004, 2005).

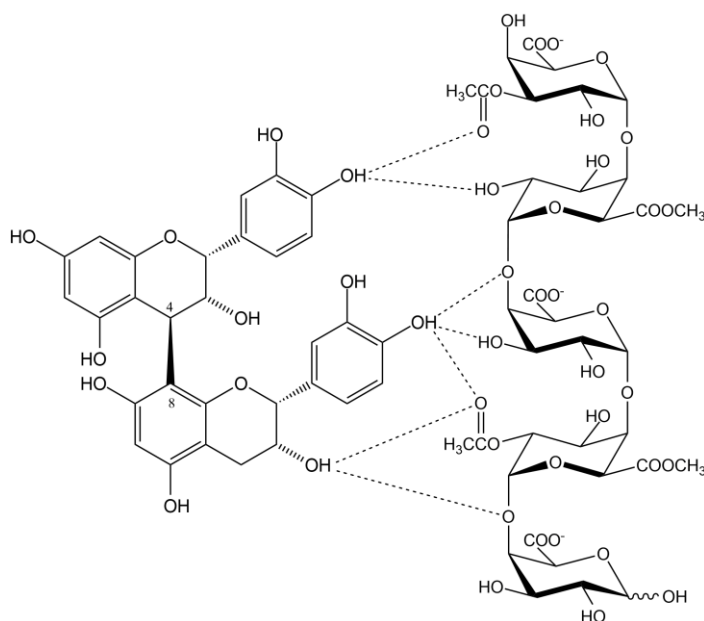


Figura 15. Enlaces de hidrógeno (líneas de puntos) entre molécula de proantocianidina y homogalacturonano (Hanlin y col., 2010).

Sin embargo, aunque los anillos aromáticos (hidrofóbicos) de los taninos condensados tienen gran afinidad por los compartimentos hidrofóbicos de la pared celular, las interacciones tanino-pared celular pueden depender del tamaño de la cavidad, así como de las propiedades estructurales y estereoquímicas de los taninos (Cai y col., 1989). En relación a la porosidad de la pared celular, se ha constatado que los poros tienen diámetros en un intervalo 4-10 nm, lo que podría restringir la entrada en las cavidades de la pared celular a moléculas de tanino con masas moleculares superiores a 10 kDa; en el caqui las proantocianidinas tienen masas moleculares de alrededor de 11 kDa (Carpita y col., 1979; Baron-Epel y col., 1988; Carpita y Gibeau, 1993; Le Bourvellec y col., 2005), si bien algunos taninos de gran tamaño podrían “reptar” a través de los poros superficiales de la pared celular (*reptation motion*) (Carlson y col., 2001; Julián-González, 2003; Hanlin y col., 2010). No obstante, faltan evidencias científicas que demuestren si los taninos se asocian a la superficie de la pared celular o si son capaces de moverse a través de la estructura de la pared celular (Hanlin y col., 2010).

Composición

Atendiendo a la composición de la pared celular, la capacidad de unión tanino-pared celular depende de la afinidad que los taninos tienen por los distintos polisacáridos, tal

y como muestra un estudio realizado con paredes celulares de manzana (Renard y col., 2001), donde se pone de manifiesto que las proantocianidinas tienen alta afinidad por los polisacáridos pécticos en comparación con xiloglucanos y celulosa.

La mayor afinidad de los taninos hacia los polisacáridos pécticos en comparación con la afinidad por los xiloglucanos, por un lado se debe a que los polisacáridos de ácido péctico establecen enlaces de hidrógeno más fuertes que los que forman los polisacáridos neutros como xiloglucanos y arabinogalactanos (Renard y col., 2001). Por otro lado, esta mayor fuerza de unión es debida a que las pectinas pueden encapsular taninos en las cavidades hidrofóbicas de su estructura reticular (Le Bourvellec y col., 2005). En relación a esto, se ha constatado que el GM de los polisacáridos pécticos afecta a su hidrofobicidad, permitiendo modular su interacción con moléculas como los taninos; cuanto mayor es el GM, mayor es la interacción tanino-pared celular (Watrelet y col., 2013). Además del GM, la composición en azúcares neutros de las cadenas laterales de las pectinas también influye en la interacción de estos polisacáridos con los taninos condensados (Watrelet y col., 2013, 2014). Asimismo, estos polisacáridos tienen la capacidad de disociar los complejos tanino-proteína (McManus y col., 1985; de Freitas y col., 2003).

Atendiendo a los xiloglucanos y a la celulosa, se observa que las microfibrillas de celulosa originan una estructura densa que puede restringir la difusión de los taninos dentro de su estructura, mientras que la estructura abierta de los xiloglucanos permite que las moléculas de tanino de cualquier tamaño se adsorban a su superficie (Hanlin y col., 2010).

Como consecuencia, la afinidad que los taninos condensados muestran por los distintos tipos de polisacáridos de la pared celular justifica que la capacidad de ésta para unirse a los taninos dependa de la estructura y composición de los polisacáridos. De este modo, una pared celular con mayor proporción de polisacáridos pécticos que de celulosa podría tener mejor capacidad de unión. Esto podría indicar que los taninos se asociarían principalmente a la lámina media y a la pared celular primaria, que tienen mayor contenido de pectinas y xiloglucanos, en lugar de unirse a la pared celular secundaria, que está mayoritariamente constituida por celulosa (Hanlin y col., 2010).

- **Taninos: influencia de su estructura/composición**

La interacción entre los taninos condensados y la pared celular, además de estar condicionada por la estructura y composición de la pared celular, está relacionada con

la naturaleza de los taninos (masa molecular, concentración, grado de esterificación con ácido gálico, estereoquímica y flexibilidad conformacional) (Renard y col., 2001; Le Bourvellec y col., 2004, 2005).

Estudios realizados utilizando pared celular de manzanas y proantocianidinas, tanto de pulpa de manzana como de semillas de uva, muestran que las interacciones tanino-pared celular aumentan al incrementar el número de sitios disponibles para la formación de enlaces de hidrógeno (Le Bourvellec y col., 2004). Principalmente esto se consigue al aumentar la longitud de las proantocianidinas, aunque también se puede lograr al incrementar el porcentaje de sustituyentes de ácido gálico de los taninos (Cai y col., 1989; Le Bourvellec y col., 2004), si bien estudios recientes han mostrado que la sustitución con ácido gálico no es la causante del incremento de la capacidad de unión tanino-pared celular (Bindon y col., 2010a; Bautista-Ortín y col., 2014). Cabe señalar que al incrementar la polimerización y el número de sustituyentes de ácido gálico también aumenta el carácter hidrofóbico de los taninos (Plumb y col., 1998). Así, la molécula de tanino tendría simultáneamente más de un punto de unión con la pared celular, de tal manera que, aunque los enlaces individuales sean débiles, al considerar toda la molécula la energía del conjunto de los enlaces es alta. De este modo, las moléculas más grandes podrían quedar más retenidas, mientras que las proantocianidinas más pequeñas, a pesar de que pueden acceder a más huecos de la pared celular, tienen menor interacción con la matriz de la pared celular, lo que facilita su desorción (Haslam, 1998; Renard y col., 2001; Le Bourvellec y col., 2004).

La configuración estereoquímica de las proantocianidinas y los enlaces entre flavanoles también pueden influir en la accesibilidad de los sitios reactivos, afectando a la fuerza de las interacciones tanino-pared celular (McManus y col., 1985; Haslam, 1998; Le Bourvellec y col., 2004; Hanlin y col., 2010); una conformación abierta y flexible de los enlaces entre flavanoles crea sitios reactivos accesibles que facilitan la formación de enlaces de hidrógeno e interacciones hidrofóbicas (Haslam, 1998). En general, cuando los dos sustratos (taninos y componentes de la pared celular) tienen una conformación abierta y flexible, existe una capacidad de orientación y adaptación espacial que proporciona interacciones más fuertes (Hanlin y col., 2010).

Por lo tanto, la afinidad de las proantocianidinas por la pared celular se incrementa cuanto mayor es el número de sitios reactivos. Esto se produce, principalmente, al incrementar el tamaño de las proantocianidinas (grado de polimerización) y también

cuando los taninos tienen una conformación abierta (Haslam, 1998; Bindon y col., 2010b; Bautista-Ortín y col., 2014).

3. FIBRA ALIMENTARIA

El interés por conocer qué es la fibra alimentaria (o fibra dietética), sus propiedades físico-químicas y sus efectos fisiológicos se ha incrementado en los últimos años, tal como refleja el aumento del número de publicaciones científicas sobre fibra alimentaria (FA) (de Menezes y col., 2013; Westenbrink y col., 2013). Debido a su composición química, estructura y propiedades, así como a su utilización como ingrediente (tecno)funcional y a sus efectos fisiológicos, la FA tiene gran importancia a nivel mundial (Willats y col., 2006; Cho y Samuel, 2009; Roberfroid y col., 2010; O'Shea y col., 2012).

3.1. DEFINICIÓN Y CLASIFICACIÓN

La fibra alimentaria está constituida por un grupo heterogéneo y complejo de componentes que puede definirse por sus características químicas y/o fisiológicas. Si bien desde el año 1953 la fibra alimentaria ha tenido diversas definiciones (Brownlee, 2011; Westenbrik y col., 2013), disponer de una única definición conllevaría beneficios tanto para los consumidores como para la ciencia y la industria. De esta forma: (a) la identificación de la etiqueta “Fibra alimentaria” sería inequívoca, (b) se podrían comparar contenidos de fibra alimentaria en diferentes bases de datos, (c) se comercializarían productos con etiquetado similar en diferentes países, y (d) se fomentaría la inversión en investigación (de Menezes y col., 2013).

Con el objetivo de crear un concepto armonizado respaldado por todos los países, el Codex Alimentarius ha propiciado amplias discusiones sobre la definición de fibra alimentaria, llegando a establecer en 2009 la siguiente definición (Codex Alimentarius, 2009; de Menezes y col., 2013; Westenbrink y col., 2013):

“La fibra alimentaria está formada por polímeros de carbohidratos¹ con diez o más unidades monoméricas², que no son hidrolizados por enzimas endógenas del intestino delgado humano, y que pertenecen a las siguientes categorías:

- *Polímeros de carbohidratos comestibles que se encuentran de modo natural en los alimentos en la forma en que se consumen.*

- *Polímeros de carbohidratos obtenidos de materia prima alimentaria por medios físicos, enzimáticos o químicos, y que se haya demostrado que tienen un efecto fisiológico beneficioso para la salud mediante pruebas científicas generalmente aceptadas y aportadas a las autoridades competentes.*
- *Polímeros de carbohidratos sintéticos que se haya demostrado que tienen un efecto fisiológico beneficioso para la salud mediante pruebas científicas generalmente aceptadas aportadas a las autoridades competentes”.*

¹ Cuando el origen de la fibra alimentaria (FA) es vegetal, puede incluir fracciones de lignina y/o otros compuestos (polifenoles, ceras, saponinas, cutina, fitatos y proteínas) asociados con los polisacáridos de la pared celular. Estos compuestos pueden cuantificarse por algunos métodos analíticos de FA, pero no se incluyen en la definición de FA si son extraídos y posteriormente reintroducidos en un alimento.

² Se excluye a los mono- y disacáridos, pero sí se pueden incluir carbohidratos con un número de unidades monoméricas de entre 3 y 9, decisión que depende de cada país.

Por otra parte, debido a los avances realizados en investigación en relación a propiedades fisiológicas y nutricionales de componentes específicos de la fibra alimentaria (ej. fructanos, almidón resistente y polidextrosa), varios organismos y países han propuesto definiciones correlacionadas con los efectos fisiológicos (AACC, 2001; European Commission, 2008). En concreto, en la Unión Europea la definición de fibra alimentaria indica que *“la fibra alimentaria está formada por polímeros de carbohidratos **con tres o más unidades monoméricas**, que no son **ni digeridos ni absorbidos** en el intestino delgado humano”* (European Commission, 2008), donde los polímeros de carbohidratos pertenecen a las tres categorías establecidas en la definición adoptada por el Codex (Codex Alimentarius, 2009).

En relación a estas definiciones cabe mostrar que algunos expertos (FAO/WHO, 2007) consideran que el término fibra alimentaria debe reservarse únicamente a los polisacáridos de la pared celular de hortalizas, frutas y cereales integrales, por tener beneficios sobre la salud claramente establecidos, en comparación con oligo- y polisacáridos sintéticos, aislados o purificados, cuyos efectos fisiológicos son diversos y en algunos casos únicos. Por lo tanto, estos expertos definen la fibra alimentaria como *“polisacáridos intrínsecos de la pared celular vegetal”* (Phillips, 2011).

Este grupo de investigadores sostiene que los componentes de un alimento deben definirse en primer lugar en base a su química, no a sus funciones. Consideran inapropiado que la definición tenga una base fisiológica; incluir “*no digerible*” implica problemas, ya que no existe un acuerdo de la definición de digestibilidad, y ningún método para validarla en humanos, ya que la digestión de los componentes de los alimentos en el intestino está condicionada por factores como el tiempo de tránsito intestinal, la naturaleza de la microflora, el uso de antibióticos y el procesado de alimentos. También indican que los términos “*almidón resistente*” y “*oligosacáridos prebióticos*” no deben aparecer en la definición de FA, por ser potencialmente engañosos para el consumidor, al no existir buenas evidencias de que los oligosacáridos aislados de matrices vegetales y posteriormente incorporados a alimentos funcionales o manufacturados aporten beneficios similares a los de la fibra alimentaria, como protección frente a enfermedades cardiovasculares y diabetes. En esta definición de FA la lignina también queda excluida (Phillips, 2011).

Tal y como se muestra en la Figura 16, la fibra alimentaria (fibra total) se puede clasificar en base a su peso molecular (fibra de peso molecular alto/bajo), fermentabilidad en el colon (fibra fermentable/poco fermentable) o solubilidad en agua (fibra insoluble/soluble) (Gómez-Martínez y col., 2008; Westenbrink y col., 2013).

Cabe señalar que, si bien la distribución en fibra insoluble (FI) y fibra soluble (FS) podría resultar imprecisa, la relación FS:FI es importante porque está relacionada con las propiedades funcionales de la fibra (Figuerola y col., 2005; Viuda-Martos y col., 2010), considerando habitualmente las relaciones próximas a 1:2 como las más adecuadas (Jaime y col., 2002).

3.2. PROPIEDADES TECNOLÓGICAS

Desde un punto de vista tecnológico, la fibra alimentaria puede aportar a los alimentos capacidad de retener agua y aceite, habilidad para formar emulsiones y/o geles, así como propiedades antioxidantes. De este modo, la incorporación de FA a productos alimenticios (productos de panadería, lácteos, mermeladas, carnes, pescados) puede modificar propiedades de textura, evitar sinéresis (separación de líquido del gel), estabilizar tanto emulsiones como alimentos de elevado contenido en grasa, y mejorar la vida útil de los alimentos (Elleuch y col., 2011).

Esta funcionalidad tecnológica de la fibra alimentaria depende de sus propiedades físico-químicas. Por ello, a continuación, se comentan las principales propiedades

físico-químicas que justifican el uso de la FA como ingrediente tecnológico en la industria alimentaria:

- **Tamaño de partícula**

El tamaño de partícula de la fibra alimentaria varía entre 100-1000 μm , dependiendo del tipo de pared celular y del grado de procesado del alimento. Este aspecto condiciona algunas propiedades de la fibra, como hidratación, retención de aceite, y adsorción de moléculas orgánicas y cationes (Guillon y Champ, 2000).

- **Solubilidad**

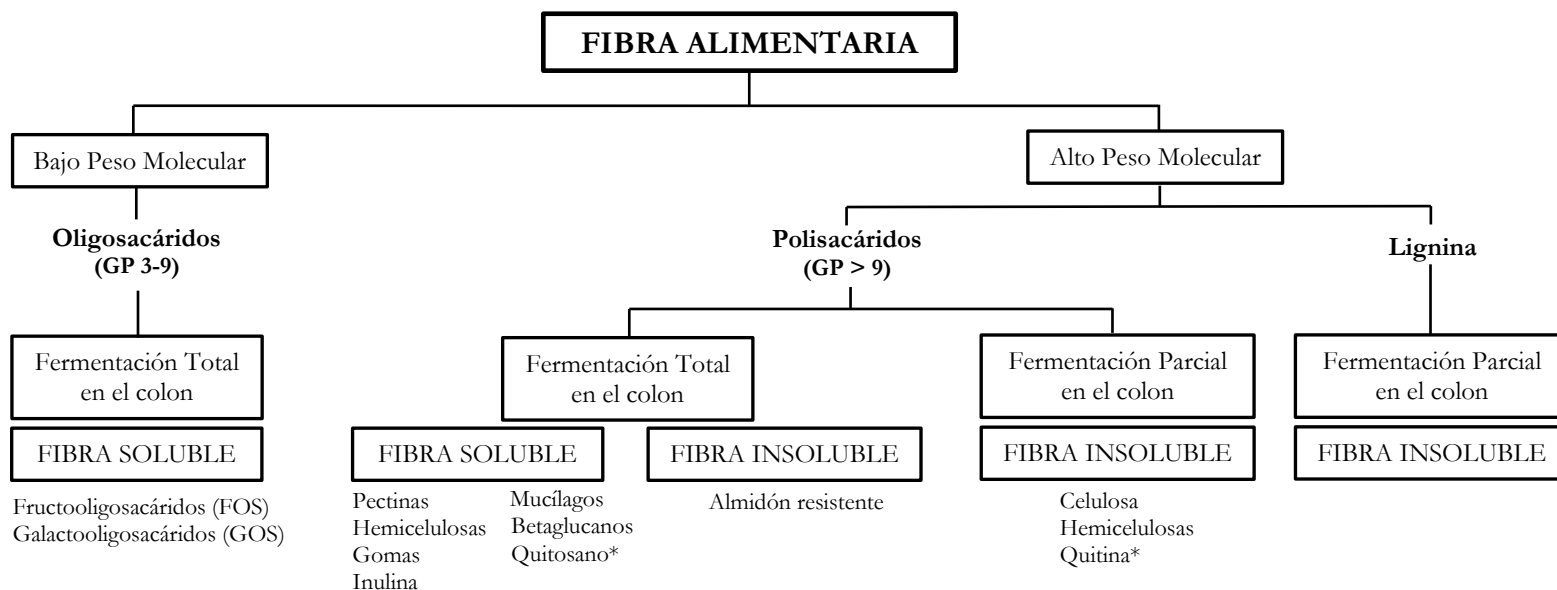
La solubilidad en agua de la fibra alimentaria está relacionada con la temperatura, fuerza iónica y estructura de sus constituyentes (Jiménez-Escrig y Sánchez-Muniz, 2000; Elleuch y col., 2011). Los polisacáridos lineales y sin ramificaciones (ej. celulosa) son insolubles, mientras que polisacáridos con irregularidades en su cadena principal o cadenas laterales (ej. pectinas) suelen ser solubles (Guillon y Champ, 2000; Dhingra y col., 2012).

- **Propiedades de hidratación**

Las propiedades de hidratación se determinan cuantificando el hinchamiento, la retención de agua y la absorción de agua de la fibra alimentaria. El hinchamiento y la capacidad de retención de agua aportan una visión general de la hidratación de la FA, pudiendo obtener así información útil para incorporar fibra a alimentos, mientras que la absorción de agua está relacionada con el tamaño de poro de la FA (Guillon y Champ, 2000).

Estas propiedades están condicionadas por la estructura química de los componentes de la fibra alimentaria, tamaño de partícula, temperatura, fuerza iónica, pH y procesamiento de la materia prima (Viuda-Martos y col., 2010; Elleuch y col., 2011).

Por un lado, la habilidad de la fibra alimentaria para retener agua está fuertemente relacionada con su **origen**; como ejemplo, la FA de algas tiene mayor afinidad por el agua que la FA de subproductos de zumos de frutas, encontrando la menor afinidad en la FA de derivados de cereales (Fleury y Lahaye, 1991; Abdul-Hamid y Luan, 2000).



FOS e inulina: fructanos; oligo- y polisacáridos de fructosa con unidades terminales de glucosa. Son prebióticos; mejoran el balance de la microbiota. En hortalizas, cereales y frutas. Se usan como ingredientes funcionales en yogures, bebidas, galletas.

GOS: oligosacáridos de galactosa con unidades terminales de glucosa. Son prebióticos. En leche de vaca, legumbres. Se usan como ingredientes funcionales.

Pectinas, hemicelulosas, celulosa y lignina: v. apartado “1. Pared celular vegetal”.

Gomas: polisacáridos que forman geles a baja concentración. En exudados de plantas (goma arábiga), semillas (goma guar) y algas (agar, carragenanos, alginatos). También como productos de la fermentación de glucosa que realiza la bacteria *Xanthomonas campestris* (goma xantana). Se usan como aditivos alimentarios para gelificar, espesar, estabilizar y emulsionar.

Mucílagos: polisacáridos hidrosolubles que forman geles. En semillas de cereales. Se usan como aditivos alimentarios para gelificar, espesar, estabilizar y emulsionar.

Betaglucanos: polímeros ramificados de glucosa, solubles en agua y que forman soluciones viscosas. En cereales; avena, cebada. Interés como fuente de fibra soluble.

Quitosano y quitina: polisacáridos lineales encontrados principalmente en el esqueleto de crustáceos. El quitosano es el segundo polímero natural más abundante en la naturaleza, detrás de la celulosa.

Almidón resistente: almidón (polisacárido de glucosa) no absorbido en el intestino delgado y fermentado por la microflora del intestino grueso. En legumbres, patata, plátano.

Figura 16. Componentes y clasificación de la fibra alimentaria. GP: grado de polimerización. *Origen animal. Fuentes: Borderías y col., 2005; Gray, 2006; Molina y Martín, 2007; Gómez-Martínez y col., 2008; Kelly, 2008; Fuentes-Zaragoza y col., 2010; Braz de Oliveira y col., 2011; Elleuch y col., 2011; Westenbrink y col., 2013.

Por otro lado, el **tamaño de partícula** influye sobre las propiedades de hidratación de tal forma que la disminución de este parámetro implica reducción de la capacidad de retención de agua (Sangnark y Noomhorm, 2003; Dhingra y col., 2012).

Sin embargo, aumentar la **temperatura** incrementa la capacidad de hidratación de la fibra, probablemente debido a que la FA se solubiliza (Fleury y Lahaye, 1991). Aumentos de la capacidad de hidratación también se constatan cuanto mayor es la presencia de fibra soluble, consecuencia de que la capacidad de retención de agua de esta fracción de fibra es mayor que la mostrada por la fibra insoluble (Rosell y col., 2009). Por lo tanto, es de esperar que en alimentos de origen vegetal, la fibra alimentaria tenga buenas propiedades de hidratación si está compuesta principalmente por paredes primarias, en lugar de por paredes secundarias (Guillon y Champ, 2000).

- **Capacidad de retención de aceite**

La capacidad de retención de aceite depende de la porosidad y tamaño de partícula de la fibra alimentaria. El parámetro porosidad es más relevante que la afinidad molecular entre la fibra y el aceite, y en lo relativo al tamaño de partícula se sabe que, a menor tamaño, mayor capacidad de retención de aceite, comportamiento contrario al encontrado en las propiedades de hidratación (Viuda-Martos y col., 2010; Dhingra y col., 2012).

- **Viscosidad**

La fibra soluble es la fracción de fibra alimentaria más adecuada tanto para incrementar la viscosidad de una solución como para formar geles (Abdul-Hamid y Luan, 2000). La viscosidad se incrementa al aumentar la concentración de FA, pero disminuye con la temperatura (Grigelmo-Miguel y col., 1999a; Elleuch y col., 2008), mientras que la gelificación depende de factores como concentración, temperatura, presencia de iones y pH (Borderías y col. 2005). Las algas y los subproductos de frutas son excelentes fuentes de fibra soluble, seguidas por frutas, hortalizas y cereales (Elleuch y col., 2011).

- **Capacidad antioxidante**

La fibra alimentaria de origen vegetal tiene propiedades antioxidantes que dependen de su composición química, y que posibilitan su uso como ingrediente para estabilizar alimentos grasos, al mejorar la estabilidad oxidativa del alimento y prolongar su vida útil (Elleuch y col., 2011).

- **Capacidad quelante**

La capacidad quelante de la fibra alimentaria depende de su composición y estructura química, de las condiciones experimentales (pH y temperatura) y del metal objeto de estudio. Se ha encontrado que hemicelulosas y pectinas tienen habilidad para unir metales pesados (Nawirska y Kwasniewska, 2005).

3.3. IMPORTANCIA EN LA INDUSTRIA ALIMENTARIA

La industria alimentaria puede aprovechar las propiedades físico-químicas de la fibra alimentaria para mejorar la viscosidad, textura, características sensoriales y vida útil de los productos que elabora (Figura 17). Esto conlleva que materias primas alimentarias y subproductos de cereales, frutas y otros vegetales ricos en fibra pueden añadirse a alimentos para reemplazar parte de las harinas, grasas y azúcares, facilitar la retención de agua y aceite, y mejorar la estabilidad oxidativa y las emulsiones. No obstante, se debe tener en cuenta que el porcentaje de fibra que se puede adicionar es reducido, porque una excesiva adición de FA puede producir cambios no deseables en el color y textura de los alimentos (Elleuch y col., 2011; O'Shea y col., 2012).



Figura 17. Adición de fibra alimentaria a mermeladas, lácteos, surimi, pan y embutidos para mejorar las propiedades tecnológicas del producto.

Habitualmente, la fibra alimentaria se añade a productos de panadería, lácteos, frutas, carne y pescado (Elleuch y col., 2011). A pesar de que tradicionalmente la incorporación de fibra en **productos de panadería** ha consistido en adicionar cereales integrales, se están empezando a introducir nuevas fuentes de fibra alimentaria,

principalmente de frutas, por su mejor relación FS:FI, capacidad antioxidante, retención de agua/aceite, y mayor grado de fermentabilidad, así como por tener importantes contenidos de compuestos bioactivos (ej. flavonoides, carotenoides) (Wang y col., 2002; Figuerola y col., 2005; Uysal y col., 2007; Vergara-Valencia y col., 2007; Rupasinghe y col., 2008; Basanta y col., 2014). Esta adición de fibra se realiza para prolongar la frescura y modificar tanto la suavidad de la miga como el volumen, elasticidad y firmeza de las barras de pan (Wang y col., 2002; Sangnark y Noomhorm, 2004). En general, la incorporación de fibra alimentaria en el pan reduce el volumen de la barra e incrementa su firmeza, si bien cabe tener en cuenta que la capacidad de modificación depende de la fuente de fibra (Elleuch y col., 2011).

En relación a los **productos lácteos**, el uso de fibra alimentaria (avena, trigo, manzana, inulina) está muy extendido, por ejemplo para mejorar la textura y controlar la cristalización/recristalización en productos lácteos congelados (Soukoulis y col., 2009); en los helados, la fibra alimentaria proporciona texturas suaves y uniformes con resistencia a derretirse, y obstaculiza el crecimiento de cristales debido a cambios de temperatura durante el almacenamiento (Regand y Goff, 2003). Por otro lado, la inulina adicionada a sucedáneos de queso o helados mejora el cuerpo y la sensación en boca, y reduce la sinéresis tanto en el yogur como en otros productos de leche fermentada (Elleuch y col., 2011).

La fibra alimentaria también puede utilizarse como ingrediente en la elaboración de **productos de frutas**, por ejemplo en mermeladas, donde la pectina industrial puede sustituirse por fibra alimentaria de frutas, aportando así viscosidad al producto final (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1999b).

Atendiendo a los **productos cárnicos** (hamburguesas, embutidos,...), la fibra alimentaria se puede introducir para sustituir parte de la grasa, reduciendo así el contenido calórico de estos alimentos. Asimismo, la adición de FA puede mejorar la textura y estabilidad de los productos cárnicos, y mantener la jugosidad de la carne (García y col., 2002; Eim y col., 2008; Sáyago-Ayerdi y col., 2009; Viuda-Martos y col., 2010).

En lo referente a **productos de pescado**, la adición de fibra soluble como carragenanos, goma guar o goma xantana, mejora la funcionalidad del producto final (Borderías y col., 2005); en productos elaborados con pescado troceado, mejora la retención de agua, capacidad de emulsión y propiedades gelificantes. Sin embargo, se debe tener en cuenta que esto puede provocar pérdida de rigidez y elasticidad de la

carne de pescado (Yoon y Lee, 1990; Borderías y col., 2005). Por otra parte, la adición de fibra insoluble de trigo puede proteger el surimi de la pérdida de resistencia del gel y dureza durante la refrigeración, pero puede reducir las características de gel y cohesividad durante la gelificación térmica (Sánchez-Alonso y col., 2006). Adicionalmente, incorporar orujo de uva a productos elaborados a base de pescado troceado protege el producto frente a la oxidación lipídica, mejorando su sabor y permitiendo prolongar su vida útil (Sánchez-Alonso y col., 2007).

Según Larrauri (1999), *“la fibra alimentaria ideal”* debe cumplir los siguientes requisitos:

- No tener componentes no deseables a nivel nutricional.
- Estar lo más concentrada posible, para que cantidades pequeñas aporten el máximo efecto fisiológico.
- Ser neutra en sabor, color, textura y olor.
- Tener una adecuada composición (fracciones FI y FS) y componentes bioactivos asociados.
- Tener buena vida útil que no afecte negativamente al alimento al que se incorpore.
- Ser compatible con el procesado de los alimentos.
- Ser aceptada por el consumidor.
- Disponer de los efectos fisiológicos esperados.
- Tener un precio razonable.

Se considera que un alimento es “fuente de fibra” cuando contiene como mínimo 3 g de fibra alimentaria por cada 100 g, mientras que un alimento tiene un “alto contenido de fibra” cuando contiene como mínimo 6 g de fibra alimentaria por cada 100 g (European Commission, 2006).

3.4. EFECTOS FISIOLÓGICOS

La fibra alimentaria, además de despertar interés por sus propiedades tecnológicas, tiene importantes efectos fisiológicos sobre el organismo, como alteración de la absorción de nutrientes, fermentación y adsorción de sustancias.

- **Absorción**

La función principal del tracto gastrointestinal consiste en absorber los constituyentes de los alimentos que se ingieren, siendo el intestino delgado el lugar en el que esta

absorción se produce principalmente. Así, se absorben las unidades de los macronutrientes digeribles (aminoácidos, monosacáridos y ácidos grasos), vitaminas, minerales y otros micronutrientes (Brownlee, 2011), mientras que la absorción de agua ocurre en el intestino grueso (Sandle, 1998; Ma y Verkman, 1999).

La fibra alimentaria puede reducir la absorción de nutrientes, siendo la fibra soluble, que forma geles y soluciones viscosas en las condiciones gastrointestinales, la fracción que más reduce la tasa de absorción en comparación con fibra alimentaria de bajo peso molecular o baja viscosidad (Jenkins y col., 2000; Brownlee, 2011).

- **Fermentación**

La fibra alimentaria llega al intestino grueso sin haber sido previamente degradada, ni en el estómago, ni en el intestino delgado. Entonces, es fermentada de manera total o parcial por las bacterias anaeróbicas (microflora) del colon, produciendo gases y ácidos grasos de cadena corta (Figura 18) (Gray, 2006; Sajilata y col., 2006; Sharma y col., 2008).

A partir de estos productos de fermentación, las bacterias generan energía y carbono, de manera que los componentes de la dieta capaces de estimular la fermentación incrementan los niveles de bacterias (bifidobacterias y *Lactobacillus*), lo que conlleva un aumento del volumen de las heces (Brownlee y col., 2006; Gray, 2006; Brownlee, 2011).

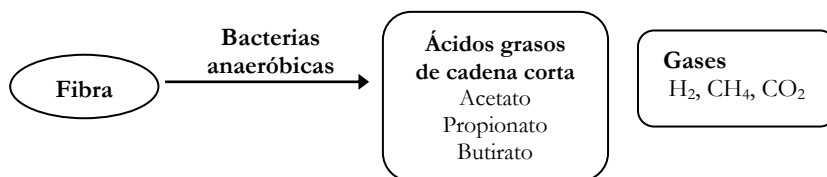


Figura 18. Fermentación de la fibra alimentaria en el colon.

Como ha quedado reflejado en la Figura 16, en general, la fibra insoluble es poco fermentable, lo que supone un mayor aumento de la masa fecal, debido a restos no digeridos de fibra y a su capacidad de retener agua (Escudero y González, 2006). Sin embargo, la fibra soluble, que es totalmente fermentable, aumenta la biomasa bacteriana y la retención de agua (Escudero y González, 2006; Viuda-Martos y col., 2010).

Los ácidos grasos de cadena corta (principalmente butirato) están implicados en funciones beneficiosas para la salud del colon (Topping y Clifton, 2001); bajan el pH del colon, provocando así inhibición del crecimiento de organismos patógenos, reducción tanto de la degradación de péptidos como de la formación de compuestos tóxicos (ej. amonio y ácidos biliares secundarios), y disminución de la actividad de bacterias no deseables. Además, estos ácidos grasos son absorbidos en la sangre, originando efectos sistémicos como cambios beneficiosos en el metabolismo de glucosa y lípidos (Gray, 2006).

Por lo tanto, el origen de la FA, el tipo y cantidad de microflora, así como la motilidad del colon condicionan la fermentación y, en consecuencia, la producción de ácidos grasos de cadena corta (Brownlee y col., 2006).

- **Adsorción**

La fibra alimentaria puede adsorber toxinas alimentarias y químicas o mutágenos potenciales (ej. colesterol, ácidos biliares, dioxinas y aminas heterocíclicas) presentes en los alimentos y en el lumen, o que tienen un origen bacteriano, reduciendo así la exposición de la mucosa a estos agentes dañinos, y favoreciendo su eliminación (Harris y col., 1998; Karakaya y Kavas, 1999; Aozasa y col., 2001; Brownlee y col., 2006). Este menor contacto entre sustancias dañinas e intestino se consigue por reducción del tiempo de tránsito colónico, aumento del factor de dilución de estas sustancias, y potencialmente por unión a ellas. No obstante, la fibra alimentaria presenta el inconveniente de reducir la biodisponibilidad de minerales, vitaminas y fitoquímicos (Brownlee, 2011).

Por lo tanto, se debe tener en cuenta que, como la unión a la fibra alimentaria depende de interacciones moleculares, en la dieta deben estar presentes los distintos componentes de la fibra alimentaria, para que el intestino pueda estar bien protegido (Brownlee y col., 2006).

- **Motilidad gastrointestinal**

La ingesta de alimentos ricos en fibra alimentaria incrementa el volumen de las heces, y puede regular el tiempo de tránsito gastrointestinal (Brownlee, 2011). Entre la fibra alimentaria generalmente consumida en la dieta, la fibra poco fermentable (ej. celulosa) y la fibra con buena capacidad de retención de agua (ej. pectinas) son las mejores para aumentar el contenido luminal del intestino grueso (Chaplin, 2003; Brownlee y col.,

2006). En relación a esto, Ferguson y Harris (1997) han puesto de manifiesto que los alimentos integrales son más eficaces que los productos refinados en aumentar el volumen de las heces y reducir el tiempo de tránsito. Un tránsito rápido se considera beneficioso para reducir la exposición de la mucosa del colon a los agentes potencialmente dañinos que pueden existir en el intestino grueso (Brownlee y col., 2006; Brownlee, 2011).

- **Sistema inmunitario**

El intestino es el órgano con mayor densidad de células del sistema inmunitario (10^{12} células/g de contenido luminal) (Hooper y Macpherson, 2010), y actúa como barrera de defensa limitando el paso de sustancias nocivas al organismo. Esta barrera de mucosa intestinal, además de funciones inmunes, actúa como barrera física (fluidos, motilidad, epitelio, moco), química (secreciones, enzimas, pH, ácidos grasos) y biológica (microflora) (Vega, 1994; Ramiro-Puig y col., 2008; Brownlee, 2011).

Estudios realizados en modelos animales, en relación al efecto que la fibra alimentaria tiene sobre la inmunidad gastrointestinal, muestran que los alginatos, salvado de trigo y carragenanos tienen efecto beneficioso sobre la barrera de mucosa del colon, en comparación con la inexistencia de fibra alimentaria, celulosa, pectinas y goma arábiga (Brownlee, 2011).

3.5. FIBRA ALIMENTARIA FRENTE A ENFERMEDADES

Los efectos fisiológicos que la fibra alimentaria tiene en el organismo son beneficiosos para la diabetes tipo 2, enfermedades coronarias, obesidad, enfermedades gastrointestinales y cáncer colorrectal (Mann y Cummings, 2009; EFSA, 2010; Hauner y col., 2012):

- **Diabetes**

La ingesta de alimentos con alto contenido en fibra alimentaria puede reducir los niveles de glucosa en sangre de pacientes con diabetes tipo 2, siendo la fracción de fibra soluble la más eficaz tanto en reducir la velocidad con la que la glucosa llega a la sangre como la secreción de insulina (Anderson y col., 2004; Schulze y col., 2004; Sievenpiper y col., 2009; Kendall y col. 2010; Zapata y col., 2013). Por ello, numerosos organismos internacionales han realizado recomendaciones nutricionales que aconsejan

incrementar la ingesta de fibra alimentaria en individuos con este tipo de diabetes (Anderson y col., 2004).

- **Enfermedades coronarias**

Las dietas con contenidos altos de fibra alimentaria parecen tener efecto directo sobre la reducción de padecer enfermedades coronarias, que son debidas a factores como niveles altos de colesterol LDL en sangre, diabetes tipo 2 y obesidad (Kendall y col., 2010).

El mecanismo exacto por el cual la fibra alimentaria reduce los niveles de colesterol en sangre no es conocido (Viuda-Martos y col., 2010), pero podría deberse a que la FA es capaz de adsorber ácidos biliares, provocando su pérdida a través de las heces, en lugar de su reabsorción. Como consecuencia, se sintetizan nuevos ácidos biliares a partir de colesterol, lo que conlleva que la concentración de colesterol en sangre disminuya (Brownlee, 2011).

- **Obesidad**

La ingesta de alimentos ricos en fibra alimentaria incrementa la sensación de saciedad y disminuye la absorción de nutrientes en el intestino delgado, ayudando a controlar el peso y, por tanto, reduciendo la posibilidad de padecer obesidad (Kendall y col., 2010). Al control de la obesidad también contribuyen el aumento de la excreción de grasa y proteínas, así como el menor índice glucémico (Molina y Martín, 2007).

- **Enfermedades gastrointestinales**

La fibra alimentaria es un factor de protección frente a enfermedades como la diarrea, diverticulosis, colon irritable y estreñimiento (Gray, 2006; Rodríguez y col., 2006). En el caso del estreñimiento leve y moderado, la FA tiene un efecto beneficioso porque, tanto el incremento que genera en el volumen fecal como los productos de fermentación (ácidos grasos de cadena corta y gases), estimulan la motilidad y pueden acelerar el tiempo de tránsito intestinal (Escudero y González, 2006).

- **Cáncer colorrectal**

Se cree que el cáncer colorrectal se puede desarrollar por formación de sustancias cancerígenas a partir de ácidos biliares presentes en el intestino, y que la ingesta de

fibra alimentaria puede reducir el riesgo de padecer esta enfermedad. La FA actúa como factor preventivo porque aumenta la excreción de ácidos biliares en las heces, diluye y adsorbe agentes cancerígenos y reduce el tiempo de contacto entre el colon y las sustancias cancerígenas. Además, el butirato generado en la fermentación de la FA también parece estar implicado en la reducción del riesgo de padecer este tipo de cáncer, ya que inhibe el crecimiento y proliferación de células cancerígenas (Molina y Martín, 2007; Sharma y col., 2008; Dhingra y col., 2012).

Por lo tanto, debido a los beneficios que la fibra alimentaria tiene en la salud, es necesario que esté presente en la dieta. Las ingestas recomendadas de fibra alimentaria por persona y día, procedentes del consumo de alimentos, deberían estar entre 21-38 g, dependiendo de la edad y del sexo, donde la fibra soluble debe suponer entre el 20-30% y la fibra insoluble entre 70-80% del contenido total de fibra (Institute of Medicine, 2001; Ruiz-Roso y Pérez-Olleros, 2010). No obstante, estudios realizados en España revelan que la ingesta media de FA está por debajo de estos valores, ya que se sitúa en 18-20 g/persona y día (Majem y Bartrina, 2004; MAGRAMA, 2012), lo que se debe a los cambios de conducta alimentaria que se están experimentando en nuestro país.

4. CAQUI

El caqui (*Diospyros kaki* Thunb.) es el fruto del árbol de la familia *Ebenaceae*, género *Diospyros*, donde la especie *D. kaki* se cultiva por el valor comercial de sus frutos (Giordani y col., 2011). Los frutos de esta especie pueden ser astringentes o no astringentes (Yamada y col., 2002; Giordani y col., 2011; Li y col., 2011; Chung y col., 2015; Mir-Marqués y col., 2015), dependiendo del contenido de proantocianidinas solubles que presenta la pulpa en el momento del cosechado (Yonemori y col., 2000; Chung y col., 2015). Las proantocianidinas son las responsables del carácter astringente de los frutos, cuya medida de astringencia se basa en la capacidad que estos polímeros tienen para precipitar las proteínas presentes en la saliva (Fine, 2000; Castelló y col., 2011). Los caquis astringentes producen sensación de sequedad y amargor en boca porque en estos frutos predominan las proantocianidinas solubles, mientras que los caquis no astringentes son dulces tras el cosechado porque en los frutos las proantocianidinas son mayoritariamente insolubles. Por lo tanto, las variedades astringentes sólo son comestibles después de eliminar la astringencia de manera artificial, o cuando se alcanza una sobremaduración en la que las proantocianidinas

solubles forman complejos insolubles en agua, probablemente al interactuar con pectinas (Faira y col., 1997). Algunos procesados, como el secado y las altas presiones hidrostáticas también pueden eliminar la astringencia de los frutos (Giordani y col., 2011; Vázquez-Gutiérrez, 2012a).

Aunque los caquis pueden contener hasta 8 semillas, los frutos sin semillas (partenocárpicos) son los más apreciados. La presencia de semillas en el fruto y la habilidad del cultivo para exudar etanol son factores implicados en la insolubilización de las proantocianidinas solubles, lo que condiciona que el fruto sea comestible en el momento del cosechado (Giordani y col., 2011).

4.1. PRODUCCIÓN DE CAQUI

El caqui es originario de China (Luo y Wang, 2008), pero actualmente se cultiva en zonas templadas y cálidas de países como China, Japón, Brasil, Italia y España (Butt y col., 2015; Mir-Marqués y col., 2015). La producción mundial de caqui alcanzó 4,6 millones de toneladas en el año 2013, donde el 78% se produjo en China (FAOSTAT, 2015). En España, el cultivo del caqui ha experimentado una rápida expansión en los últimos años. Hace 15-20 años la productividad era muy baja, ya que se cultivaban unas 600 ha que sólo producían 3000 T de fruto. En el año 2000, la superficie cultivada aumentó a 2300 ha, con 33000 T de caqui producido (Llácer y Badenes, 2003), y actualmente la superficie cultivada alcanza las 11035 ha, siendo la Comunidad Valenciana, principalmente la Ribera del Xúquer, la zona con mayor superficie de producción (87% en 2013) (FEPEX, 2015; Mir-Marqués y col., 2015). En esta zona se cultiva la variedad autóctona “*Rojo Brillante*” (Figura 19) en una extensión de 2710 ha,



Figura 19. Caqui de la variedad “*Rojo Brillante*”.

donde la producción total de fruto alcanza 74000 T/año, pero sólo el 31% del total se ajusta a la denominación de origen protegida (DOP) “*Kaki Ribera del Xúquer*” (Generalitat Valenciana, 2015).

La variedad “*Rojo Brillante*” se comercializa entre los meses de octubre y febrero (FEPEX, 2015), y es apreciada por su elevada y constante productividad, así como por sus buenas características nutricionales y sensoriales (Mir-Marqués y col., 2015). Es una variedad sin semillas y astringente (Giordani, 2003), por lo que es necesario aplicar tratamientos postcosecha de eliminación de la astringencia a los frutos para poder consumirlos (Salvador y col., 2007). El cultivo de caqui “*Rojo Brillante*” se ha visto favorecido porque: (a) se han puesto a punto técnicas adecuadas para la eliminación de la astringencia, (b) en el año 1996 se creó el Consejo Regulador de la Denominación de Origen “*Kaki Ribera del Xúquer*” (Llácer y Badenes, 2003; MAGRAMA, 2015), reconocida como DOP por la Unión Europea en el año 2001 (kakifruit, 2015) y (c) la demanda de caqui se ha incrementado en los países europeos, consecuencia de que los consumidores empiezan a conocer que el caqui es un fruto que tiene potencial para mantenerse saludable (Butt y col., 2015).

Los caquis de la variedad “*Rojo Brillante*” se consumen frescos y se comercializan como frutos de textura blanda (marca “*Classic*”), obtenidos por sobremaduración, o como frutos de firmeza elevada (marca “*Persimon*”), forma de mayor valor comercial que alcanza el 85% del total del caqui comercializado en la actualidad, debido a que su manipulación no es tan delicada como la de los frutos blandos (Salvador y col., 2006).

4.2. REQUERIMIENTOS EDAFOCLIMÁTICOS

El caqui se adapta bien en zonas con inviernos moderados y veranos largos y cálidos que permiten la maduración de los frutos. Aunque puede tolerar algo de sombra, requiere de zonas soleadas y aireadas. En cuanto al tipo de suelo, la salinidad no debe ser elevada, el pH debe estar comprendido entre 6,5-7,5 y el drenaje tiene que ser adecuado, ya que el cultivo de caqui es sensible al exceso de humedad. La Ribera del Xúquer es una zona adecuada para el cultivo de caqui porque tiene un clima templado, con una temperatura media de 17°C, y una precipitación media anual de 400-500 mm, donde los cultivos se encuentran protegidos de las heladas por las montañas del entorno (Mir-Marqués y col., 2015).

4.3. COMPOSICIÓN QUÍMICA DEL FRUTO

Los consumidores buscan variedad en la dieta, y cada vez son más conscientes de los beneficios que tiene para la salud el consumo de frutas y verduras frescas. Las frutas y hortalizas tienen bajo contenido energético, pero son buenas fuentes de nutrientes. El aumento del consumo de dichos productos vegetales puede ayudar a reemplazar los alimentos con elevado contenido en grasas saturadas, azúcar y sal, mejorando así la absorción de gran cantidad de nutrientes. En relación a esto, se recomienda el consumo diario de más de 400 g de frutas y verduras frescas (WHO/FAO, 2003). Asimismo, estos alimentos vegetales pueden ayudar a mantener un organismo saludable, porque tienen una composición química que promueve la salud, donde destacan la fibra alimentaria, los minerales y los compuestos como carotenoides, polifenoles y vitaminas (Gorinstein y col., 2001; WHO/FAO, 2003; Manach y col., 2004; Jiménez-Sánchez y col., 2015). Estos constituyentes pueden reducir el riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, diabetes y cáncer (Uchida y col., 1990; Piretti, 1991; George y Redpath, 2008; Park y col., 2008), porque tienen propiedades antioxidantes (Gorinstein y col., 1998; Boileau y col., 1999; Veberic y col., 2010; Matsumoto y col., 2011), actividad antidiabética (Lee y col., 2006; Dewanjee y col., 2009) y efecto hipolipidémico (Park y col., 2008; Zou y col., 2012).

Entre las frutas, el caqui presenta niveles elevados de vitamina C (Giordani y col., 2011), carotenoides (de Ancos y col., 2000; Plaza y col., 2012) y polifenoles (Gorinstein y col., 1999; Park y col., 2006), así como importantes contenidos de fibra alimentaria (Gorinstein y col., 1999) y minerales (Mir-Marqués y col., 2015):

Azúcares libres: son los constituyentes nutricionales más importantes de las frutas. El contenido medio de azúcares totales en el caqui es mayor en las variedades astringentes, siendo más elevado que el que presentan las manzanas, melocotones, peras y naranjas (Giordani y col., 2011). En los caquis maduros, el contenido de azúcares es mayor en los frutos astringentes que en los no astringentes, siendo en ambos casos la glucosa, fructosa y sacarosa los azúcares mayoritarios (Candir y col., 2009; Del Bubba y col., 2009; Veberic y col., 2010; Giordani y col., 2011). En el caqui "*Rojo Brillante*" el contenido total de azúcares es de 15 g/100 g mf, con 6, 6 y 3 g/100 g mf de glucosa, fructosa y sacarosa, respectivamente (Giordani y col., 2011).

Vitamina C: engloba al ácido ascórbico (forma reducida) y al ácido dehidroascórbico (forma oxidada). El nivel de esta vitamina es más elevado en las variedades no astringentes que en las astringentes. La ingesta de 100-150 g de caqui fresco

(aproximadamente la mitad de un fruto) aporta la cantidad diaria recomendada de esta vitamina (40-90 mg). El caqui “*Rojito Brillante*” tiene 93 mg/100 g mf de vitamina C total, donde el 38% es ácido ascórbico y el 62% es ácido dehidroascórbico (Giordani y col., 2011).

Carotenoides: son los compuestos responsables del característico color anaranjado-rojizo de los frutos (Jiménez-Sánchez y col., 2015). En el caqui predominan la β -criptoxantina y el β -caroteno (Veberic y col., 2010; Giordani y col., 2011; Plaza y col., 2012). El caqui “*Rojito Brillante*” tiene 685 y 124 $\mu\text{g}/100\text{ g mf}$ de β -criptoxantina y β -caroteno, respectivamente (de Ancos y col., 2000), y según han puesto de manifiesto Plaza y col. (2012), al eliminar la astringencia de los frutos el contenido total de carotenoides depende del estado de maduración del caqui.

Polifenoles: son compuestos que contribuyen a las propiedades sensoriales y mecanismos de defensa en los vegetales (Taiz y Zeiger, 2002). En el caqui se encuentran polifenoles como la catequina, epicatequina, epigallocatequina y proantocianidinas (Giordani y col., 2011). La epigallocatequina y epigallocatequina-galato son los principales monómeros constituyentes de las proantocianidinas (Novillo y col., 2014). El mayor contenido de fenoles se encuentra en los caquis astringentes, principalmente en la pulpa. Por el contrario, en los caquis no astringentes los mayores contenidos de fenoles se constatan en la piel (Li y col., 2011).

Minerales: además de reflejar el tipo de suelo y las características medioambientales del entorno, tienen un papel vital en la salud humana. La ingesta de un fruto de caqui (200-400 g) puede aportar, en relación a las cantidades diarias recomendadas de minerales, el 1-10% de calcio, 1-15% de hierro y magnesio, el 1-30% de cobre y potasio, hasta el 1% de sodio y 4% de zinc. Por lo tanto, el caqui proporciona elevados niveles de potasio y cobre, y niveles muy bajos de zinc y sodio, de manera que consumir caquis puede ser una opción saludable para personas con enfermedades cardiovasculares y/o hipertensión (Mir-Marqués y col., 2015).

4.4. MADURACIÓN

La maduración de los frutos es un proceso que acompaña al desarrollo de las semillas. En los frutos carnosos, la maduración conlleva cambios fisiológicos como producción de nutrientes y compuestos aromáticos, cambios de color y ablandamiento del pericarpio (Hyodo y col., 2013). Los caquis son frutos climatéricos, ya que su maduración está regulada por el etileno (Woolf y Ben-Arie, 2011). Una característica

esencial del proceso de maduración es el ablandamiento de los frutos, que se debe principalmente a las **enzimas PME y PG** (Brummell y Harpster, 2001; de Souza y col., 2011); durante la maduración de frutos climatéricos la actividad PME suele aumentar y luego disminuir (Abu-Goukh y Bashir, 2003; Ali y col., 2004; Nunes y col., 2008; Wei y col., 2010; de Souza y col., 2011), mientras que la actividad PG aumenta (Nunes y col., 2008; Van linden y col. 2008; Wei y col., 2010; de Souza y col., 2011).

Por otra parte, la maduración de los frutos provoca que el contenido total de polisacáridos pécticos disminuya y la cantidad de pectinas solubilizadas se incremente (Alonso y col., 1997; Ali y col., 2004). Esta solubilización es una característica universal que ocurre en las pectinas durante la maduración, a diferencia del proceso de despolimerización, que según Goulao y Oliveira (2008) sólo tiene lugar durante la maduración de algunas especies. En relación a esto, estudios realizados en melocotón y kiwi (Redgwell y col., 1992; Brummell y col., 2004) confirman que la solubilización sucede antes que la despolimerización. Cutillas-Iturralde y col. (1993) también estudiaron los procesos de solubilización y despolimerización, y pusieron de manifiesto que durante la maduración de los caquis se produce tanto solubilización como despolimerización de pectinas, pero no se detecta actividad PG, por lo que la solubilización de las pectinas puede ser debida al aumento de la desesterificación producida por la PME (Alonso y col., 1997). No obstante, estudios realizados en tomate muestran que la maduración lleva implícita solubilización, despolimerización y aumento de la actividad PG (Goulao y Oliveira, 2008).

En relación a la **composición química**, la calidad de los frutos de caqui es mejor al final de su estado preclimatérico, cuando la presencia de azúcares es máxima y el fruto presenta el deseable color naranja (Butt y col., 2015). No obstante, los frutos deberían analizarse en el estado de maduración "*listo para comer*", según las preferencias del consumidor, ya que dependiendo del estado de maduración los resultados pueden variar. Además, es importante tener en cuenta los factores medioambientales y postcosecha, puesto que pueden afectar considerablemente al tiempo de maduración y a la composición química de los frutos (Giordani y col., 2011). Cabe destacar que, tanto en caquis astringentes como no astringentes, el contenido de **azúcares** (Candir y col., 2009; Del Bubba y col., 2009), así como el contenido de **carotenoides** (Plaza y col., 2012) tienden a incrementarse con el avance de la maduración. Por el contrario, el contenido de **vitamina C** tiende a disminuir durante la maduración de los caquis (Giordani y col., 2011).

4.5. TRATAMIENTO POSTCOSECHA: ELIMINACIÓN DE LA ASTRINGENCIA

Los tratamientos con etanol o CO₂ son los métodos comerciales más utilizados para eliminar la astringencia de los caquis (Jeong y col., 2001). Estos tratamientos inducen la respiración anaeróbica en los frutos, lo que provoca la producción de acetaldehído, de manera que las proantocianidinas solubles en agua sufren polimerización (insolubilización) al reaccionar con el acetaldehído (Figura 20), lo que provoca la pérdida de astringencia (Fukushima y col., 1991; Matsuo y col., 1991; Tanaka y col., 1994).

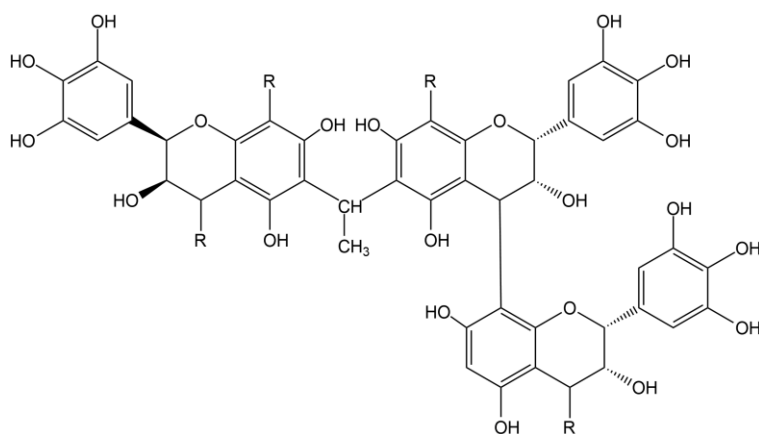


Figura 20. Proantocianidinas insolubilizadas con acetaldehído. Estructura de Es-Safi y col. (1999) y Tanaka y col. (2010), modificada.

El tratamiento con CO₂ es efectivo en la mayoría de las variedades de caqui y, además de eliminar la astringencia, mantiene la firmeza del fruto (Giordani, 2003; Vázquez-Gutiérrez, 2012a; Novillo y col., 2013). Sin embargo, se debe tener en cuenta que estos tratamientos con CO₂ pueden degradar los carotenoides, lo que conlleva cambios no deseables del color amarillo-anaranjado del fruto (González y col., 2015), principalmente cuando el estado de maduración es bajo (ej. III) (Plaza y col., 2012). Los tratamientos con CO₂ también pueden afectar a la capacidad antioxidante del caqui (Besada y col., 2012), así como inducir estrés oxidativo en el fruto (Novillo y col., 2014).

Atendiendo al caqui “*Rojo Brillante*”, en el área mediterránea las condiciones óptimas para eliminar la astringencia del fruto son 95% CO₂ durante 24 h a 20°C (Salvador y col., 2007; Novillo y col., 2014). No obstante, cuando el tratamiento se aplica a

temperaturas por debajo de 12°C y el estado de maduración del fruto es avanzado, la eliminación de la astringencia puede ser incompleta. Según indican Novillo y col. (2015), cuando la temperatura es de 12°C, se puede conseguir la eliminación total de la astringencia si se aplica el tratamiento 98% CO₂ + 0,5% etanol durante 24 h.

4.6. INDUSTRIALIZACIÓN DE LOS FRUTOS DE CAQUI

El caqui tiene una vida útil menor que la que presentan otros frutos, lo que implica que tras el cosechado una cantidad significativa de caquis maduros no sean adecuados para su consumo como frutos enteros, pero sí puedan ser transformados en productos que preservan los componentes bioactivos del caqui; una posible solución puede consistir en incorporar caquis en la elaboración de helados (Karaman y col., 2014) o utilizar los frutos para elaborar harinas y licor (Gorinstein y col., 1993; Escutia, 2000).

En España, entre el 70-80% de la producción total de caqui se exporta, principalmente a Alemania e Italia (FEPEX, 2015; Generalitat Valenciana, 2015). Además, en relación al caqui “*Rojo Brillante*” con denominación de origen “*Kaki Rivera del Xúquer*”, el progresivo incremento de la producción, así como los requisitos que debe cumplir el fruto para ajustarse a las exigencias de la DOP (DOCV, 2010), conllevan excedentes de producción y frutos que no se ajustan a las condiciones de la DOP (69%), para los que resulta de interés disponer de procesos de transformación industrial que puedan absorber esta parte de la producción (Escutia, 2000; Generalitat Valenciana, 2015). En este sentido, existen estudios que muestran que el caqui de variedad “*Rojo Brillante*” podría emplearse para elaborar zumos (González y col., 2015; Jiménez-Sánchez y col., 2015), batidos (Hernández-Carrión y col., 2014a, 2015) y mermeladas (Igual y col., 2011).

5. ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS

Los alimentos se procesan para mantener sus propiedades sensoriales y nutricionales, así como para prolongar su vida útil, evitando así su degradación, que se debe principalmente a la acción de microorganismos y enzimas. El equilibrio entre la calidad, seguridad y larga vida útil de los alimentos demandado por los consumidores supone implantar en la industria alimentaria nuevas técnicas de procesado que no afecten de manera indeseable a las características nutricionales y organolépticas de los alimentos, como degradación de vitaminas, color y sabor que se producen al tratar los alimentos con los tradicionales métodos térmicos (San Martín y col., 2002; McInerney y col.,

2007; Anthon y Barrett, 2012). Estas nuevas técnicas se conocen como métodos no térmicos y se desarrollan como alternativa a los tratamientos térmicos (pasteurización y esterilización), con el objetivo de obtener alimentos microbiológicamente seguros, sin cambios indeseables en las propiedades sensoriales, físico-químicas y nutricionales, y con mayor vida útil; entre estas técnicas se encuentran las altas presiones hidrostáticas (APH).

La tecnología de las APH es relativamente nueva en la industria alimentaria, puesto que se ha ido incrementando progresivamente a lo largo de los últimos 15 años. Es una tecnología que tiene potencial para desarrollar nuevos alimentos con valor añadido, y que conlleva mayores márgenes de seguridad y calidad en los alimentos, y costes inferiores que otros métodos de procesado/conservación (Oey y col., 2008a; Heinz y Buckow, 2010). Además, la aplicación de altas presiones hidrostáticas es una de las tecnologías innovadoras de procesado de alimentos más aceptadas por los consumidores (Cardello, 2003; Cardello y col., 2007).

5.1. PRINCIPIOS FUNDAMENTALES

La aplicación de APH a los alimentos consiste en someter a éstos a presiones entre 100 y 900 MPa. Es habitual que el tratamiento de APH se aplique a temperaturas moderadas, considerando las APH como método no térmico cuando la temperatura de tratamiento es inferior a 50°C (San Martín y col., 2002; Escobedo-Avellaneda y col., 2011). En la industria alimentaria, las APH se han venido aplicando principalmente para inactivar microorganismos y enzimas, a temperaturas inferiores a las utilizadas en los métodos térmicos habituales, para evitar así las consecuencias negativas producidas por éstos. Los alimentos (sólidos o líquidos) se colocan en un recipiente lleno de líquido, generalmente agua, que actúa como medio que transmite la presión (San Martín y col., 2002), y la generación de la presión dentro del recipiente se alcanza por compresión directa o indirecta (San Martín y col., 2002; Heinz y Buckow, 2010). El procesado con APH se caracteriza por 3 parámetros: presión, temperatura y tiempo de exposición a la presión (Heinz y Buckow, 2010).

El tratamiento de APH se basa en los siguientes dos principios:

1. La presión hidrostática que ejerce el líquido sobre el alimento se transmite al alimento **instantáneamente** y de **manera uniforme**, independientemente de la composición, tamaño y forma del alimento y del recipiente de presión. El hecho de que la presión aplicada sea igual en todas las direcciones permite que

los alimentos sólidos mantengan su forma original (San Martín y col., 2002; Oey y col., 2008b; Torres y col., 2009).

2. El procesado con APH está gobernado por el **principio de Le Châtelier**: un incremento de presión a temperatura constante va acompañado por una reducción de volumen y viceversa; en condiciones de equilibrio, las reacciones químicas, transiciones de fase y los cambios conformacionales que implican reducción de volumen están favorecidos por la presión (Escobedo-Avellaneda y col., 2011).

5.2. VENTAJAS Y LIMITACIONES

A continuación se indica cuáles son las principales ventajas y limitaciones que presenta la aplicación de APH a los alimentos (San Martín y col., 2002; Oey y col., 2008b; Yaldagard y col., 2008; Escobedo-Avellaneda y col., 2011; Barba y col., 2012; Vázquez-Gutiérrez, 2012a):

Ventajas

- Es independiente del tamaño y forma del alimento.
- Es independiente de la relación entre tiempo y masa, ya que actúa instantáneamente, reduciendo así el tiempo de procesado.
- La transmisión de la presión es uniforme a través del alimento, lo que trata por igual a todo el alimento.
- No rompe enlaces covalentes, lo que permite mantener el sabor original de los productos.
- Afecta a los enlaces débiles, causando la inactivación de microorganismos y enzimas responsables del deterioro de los alimentos.
- La inactivación enzimática y la muerte microbiana pueden producirse a temperatura ambiente, lo que mejora la calidad de los alimentos y reduce la cantidad de energía térmica utilizada en los tratamientos térmicos convencionales.
- Los productos líquidos se pueden tratar sin envasado previo.

Limitaciones

- Las enzimas y esporas de las bacterias son resistentes a la presión y requieren de presiones elevadas para inactivarse.

- Puede existir actividad enzimática residual y oxígeno disuelto, lo que da lugar a degradación enzimática y oxidativa de algunos componentes del alimento.
- La mayoría de los alimentos procesados con APH necesitan conservación y distribución a baja temperatura para retener sus propiedades sensoriales y nutricionales.
- La efectividad del tratamiento de APH sobre la calidad y seguridad general del alimento está condicionada tanto por los niveles de presión/temperatura, el tiempo de tratamiento y la relación de presurización/descompresión, como por la matriz alimentaria.

5.3. EFECTO SOBRE LAS ENZIMAS DE LA PARED CELULAR

Las APH pueden afectar tanto a la estabilidad como a la actividad de las enzimas PME y PG, probablemente porque el incremento de presión a temperatura constante va acompañado por reducción de volumen (principio de Le Châtelier) (Sila y col., 2008; Jolie y col., 2012). Habitualmente se aplican tratamientos térmicos ($>90^{\circ}\text{C}$) en cuanto los frutos se trocean/homogeneizan, para así inactivar las enzimas PME y PG y, en consecuencia, evitar la degradación enzimática de las pectinas (Anthon y Barrett, 2012). No obstante, parece más adecuado disponer de tratamientos que inactiven completamente la PG y mantengan, incrementen o reduzcan la actividad de la PME (Crelier y col., 2001).

• Estabilidad y actividad enzimática

Las enzimas, al igual que otras proteínas, son estables en un determinado intervalo de presión y temperatura. Al exceder estos límites, las fuerzas que estabilizan la estructura tridimensional de las proteínas se distorsionan, y esto provoca desdoblamiento y desnaturalización de la molécula y, por lo tanto, inactivación (reversible o irreversible) (Cheftel, 1992; Jolie y col., 2012).

Las APH aplicadas a temperatura ambiente pueden inactivar (desnaturalizar) enzimas, ya que alteran la estabilidad intramolecular y las interacciones solvente-proteína, provocando así cambios en la conformación global de la enzima, en el sitio activo o cerca del sitio activo. Se considera que la inactivación que originan las APH a temperatura ambiente se inicia ya que se fuerza al agua a entrar en el interior de la matriz proteica, y entonces se generan los cambios conformacionales que conducen al desdoblamiento de las proteínas (Knorr y col., 2006). Cabe señalar que las APH

afectan mayoritariamente a las estructuras terciaria y secundaria de las proteínas (Balny, 2004), puesto que eliminan principalmente las interacciones hidrofóbicas y electrostáticas, así como los enlaces de hidrógeno; sin embargo, los enlaces covalentes de la estructura primaria no suelen verse afectados (Balny, 2004; Knorr y col., 2006; Jolie y col., 2012). Según ha puesto de manifiesto Balny (2004), la estructura terciaria se altera a presiones superiores a 200 MPa, la estructura secundaria se modifica cuando la presión se sitúa entre 300-700 MPa, y la estructura primaria no es sensible a las APH cuando el tratamiento de presión se aplica a temperatura ambiente, ni incluso alcanzando presiones de 1000-1500 MPa.

Las APH también pueden influir sobre la actividad catalítica de las enzimas, ya que tienen la capacidad de aumentar o reducir esta actividad. Este hecho puede ser debido a cambios conformacionales en la estructura de la proteína, cambios en la interacción enzima-sustrato o efectos en la conversión sustrato-producto (Jolie y col., 2012). En concreto, la actividad enzimática se incrementa porque las APH degradan las membranas, facilitando así el contacto enzima-sustrato (Cheftel, 1992; Jolie y col., 2012; Bodelón y col., 2013).

PME

En general, la PME es una enzima resistente a las APH; presiones superiores a 700 MPa suelen ser necesarias para inducir inactivaciones en pocos minutos a temperatura ambiente. No obstante, algunas PME no pierden su actividad incluso tras aplicar tratamientos de 900 MPa (Ly-Nguyen y col., 2002; Polydera y col., 2004; Sila y col., 2008; Jolie y col., 2010, 2012). La estabilidad de la PME de la naranja y la zanahoria se ve afectada a presiones moderadas (Nienaber y Shellhammer, 2001; Balogh y col., 2004; Polydera y col., 2004), mientras que la PME de tomate y fresa es estable a presiones extremas (Crelrier y col., 2001; Fachin y col., 2002; Ly-Nguyen y col., 2002).

A presión atmosférica, la PME es sensible a las altas temperaturas. A pesar de que Alonso y col. (1997) muestran que en el caqui se mantiene el 80% de la actividad cuando se realizan tratamientos térmicos a 70-80°C, y que en algunos casos es necesario aplicar 90°C para inactivar la enzima (Alonso y col., 1997; Aguiló-Aguayo y col., 2009), la mayoría de las enzimas PME se inactivan a temperaturas inferiores a 70°C (Polydera y col., 2004; Sila y col., 2008). No obstante, la PME se vuelve resistente a las altas temperaturas cuando se aplica junto con altas presiones, por lo que la presión parece ejercer un efecto protector sobre la inactivación térmica de la PME (Crelrier y col., 2001; Jolie y col., 2012). Este fenómeno se debe a que los efectos de presión y

temperatura pueden ser contrarrestados en relación a la formación y ruptura de enlaces intramoleculares y/o a efectos opuestos en la interacción entre proteínas y solvente (Sila y col., 2008).

Por lo tanto, dependiendo de las combinaciones presión/temperatura, la inactivación de la enzima PME se acelera o se retrasa. En relación a este hecho, Jolie y col. (2012) indican que, en general, si el tratamiento de APH es de presión alta con temperatura baja (>500 MPa, $<50^{\circ}\text{C}$), la inactivación se acelera, pero si es de presión baja con temperatura alta (<400 MPa, $>50^{\circ}\text{C}$) la inactivación se retrasa, en comparación con tratamientos equivalentes a temperatura ambiente. En concreto, estudios realizados en tomate revelan que la inactivación es mínima cuando se aplican 300 ó 600 MPa a 70°C , mientras que con 800 MPa a 70°C se consigue una inactivación muy alta y próxima a la que provocan los tratamientos térmicos de 70°C a presión atmosférica (Crelie y col., 2001). Asimismo, Bodelón y col. (2013) ponen de manifiesto que en fresa la PME se inactiva cuando se aplican APH a 50°C respecto al control, mientras que si el tratamiento de APH se realiza a 20°C no se constatan cambios en comparación con el control.

Por otra parte, la actividad de muchas enzimas PME aumenta al aplicar APH, pudiendo incrementarse más cuando se aplican con temperaturas moderadas (Verlent y col., 2004; Duvetter y col., 2006; Sila y col., 2007). Sin embargo, se debe tener en cuenta que la actividad PME se reduce cuando la presión está por encima de la presión crítica. Esta reducción puede ser debida a inactivación reversible o irreversible de la PME, o a cambios estructurales originados en la pectina, que hacen que ésta sea menos adecuada para la enzima (Jolie y col., 2009).

PG

Al contrario de la PME, la PG es una enzima sensible a la presión, de manera que las APH a temperatura ambiente permiten inactivar la enzima PG a presiones más bajas que las necesarias para inactivar la PME; aplicar 500 MPa inactiva la enzima de manera irreversible, sin necesidad de llevar a cabo el tratamiento a temperaturas altas. No obstante, los estudios sobre estabilidad de la enzima PG se han centrado en tomate, por lo que podrían llegar a encontrarse comportamientos distintos en otros frutos (Jolie y col., 2012). Así, debido a las diferencias de estabilidad encontradas entre las enzimas PME y PG en relación a las APH (en tomate), se pueden llegar a establecer condiciones presión-temperatura adecuadas (ej. 500 MPa, 25°C , 15 min) que permitan

inactivar la enzima PG sin reducir la actividad PME (Crelier y col., 2001; Jolie y col., 2012).

Por otra parte, y a diferencia de lo que ocurre con la enzima PME, la actividad catalítica de la PG (de tomate) se reduce al incrementar la presión (Jolie y col., 2012).

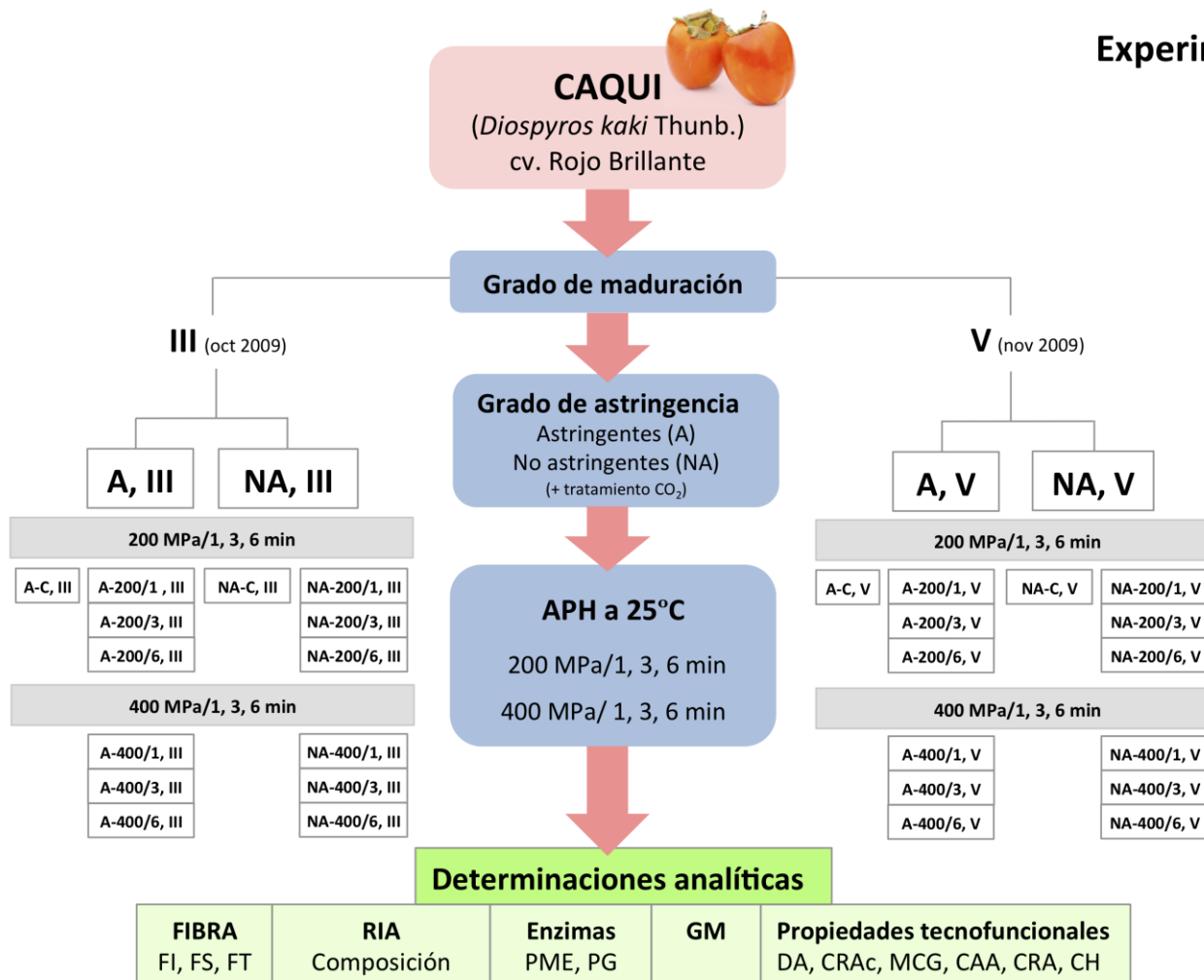
5.4. EFECTO SOBRE LA COMPOSICIÓN DE LOS ALIMENTOS

Las APH suelen ocasionar menores pérdidas de componentes funcionales que las que originan los tratamientos térmicos convencionales. Además, mantienen el valor nutricional y las propiedades sensoriales de las frutas y hortalizas, porque no afectan a la estructura primaria de moléculas de bajo peso molecular (ej. vitaminas, péptidos, lípidos y sacáridos), ya que los enlaces covalentes se comprimen poco a presiones inferiores a 2000 MPa (Oey y col., 2008a, 2008b; Heinz y Buckow, 2010). Sin embargo, en la bibliografía (Oey y col., 2008a) queda reflejado que la calidad de las frutas y hortalizas procesadas con APH puede cambiar durante el almacenamiento, debido a las reacciones químicas (ej. oxidación) y bioquímicas producidas cuando el tratamiento de APH no inactiva completamente las enzimas endógenas y los microorganismos.

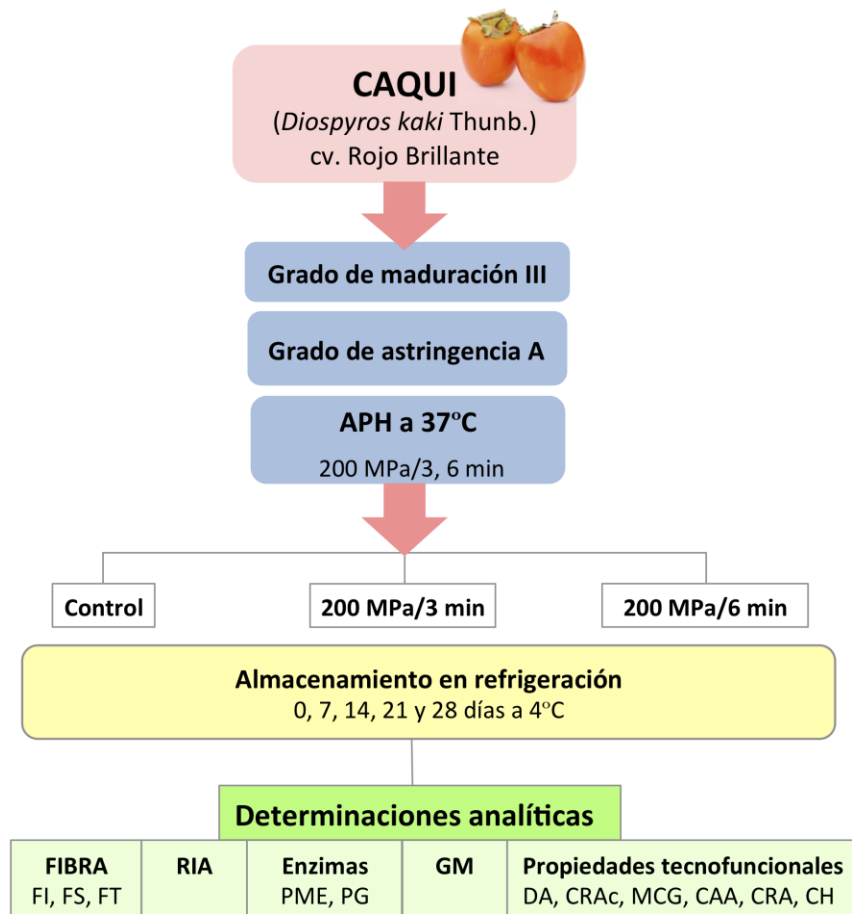
Las APH degradan la célula, lo que facilita que existan reacciones enzimáticas y no enzimáticas (Oey y col., 2008a) que pueden modificar los **polímeros de la pared celular**, afectando así a la textura de frutas y hortalizas. Asimismo, las APH incrementan la capacidad antioxidante y mejoran la bioaccesibilidad de **minerales** y **carotenoides** (de Ancos y col., 2000; Fernández García y col., 2001; Sánchez-Moreno y col., 2003a, 2009; McInerney y col., 2007; Briones-Labarca y col., 2011), así como de **polifenoles** (Escobedo-Avellaneda y col., 2011). Además, la aplicación de APH a los alimentos parece incrementar la biodisponibilidad de compuestos como la **vitamina C**, tal como muestran Sánchez-Moreno y col. (2003b, 2004) en su estudio realizado en zumo de naranja y gazpacho.

Plan de trabajo

Experimento 1



Experimento 2



Materiales y métodos

1. MUESTRAS

En el presente estudio se han utilizado caquis de la variedad “*Rajo Brillante*”, recolectados en Carlet y Alzira (Valencia, España) y suministrados por la Agrupación Nacional de Exportación de Cooperativas Citrícolas (ANECOOP). En dichos frutos se ha realizado una caracterización inicial, seguida del estudio del efecto de altas presiones hidrostáticas (APH) y de los tratamientos combinados de APH-temperatura, así como de la influencia del almacenamiento en refrigeración de los caquis tratados con APH. Por lo tanto, las muestras utilizadas han sido las siguientes:

- Efecto APH (presión y tiempo): caquis de maduración III y V, tanto astringentes como no astringentes. Frutos recolectados en noviembre y diciembre de 2009. **28 muestras.**
- Efecto tratamientos combinados APH-temperatura: caquis de maduración III y astringentes. Frutos recolectados en noviembre de 2009 y 2010. **4 muestras.**
- Efecto almacenamiento en refrigeración: caquis de maduración III y astringentes. Frutos recolectados en noviembre de 2010. **15 muestras.**

Caquis para estudio de altas presiones hidrostáticas:

El primer procesado de APH se realizó en frutos de caqui “*Rajo Brillante*” de dos estados de maduración diferentes (III y V), procedentes de la campaña 2009/2010. Los grados de maduración se determinaron en base al color externo del fruto de caqui, según indican Salvador y col. (2007), que establecen seis estados de maduración que oscilan desde I (amarillo-verde) hasta VI (naranja-rojo). Tras la recolección, los caquis se dividieron en dos lotes para cada uno de los estados de maduración. Uno de los lotes se conservó en cámara a 4°C sin tratamiento (lote astringente-A), y en el otro se realizó un tratamiento de eliminación de la astringencia en atmósfera de CO₂ al 95-98% durante 20 h a 18°C (lote no astringente-NA). Después de eliminar la astringencia, y antes del tratamiento de APH (Figura 21), los frutos también se conservaron refrigerados a 4°C.

Para el tratamiento con APH, los caquis se lavaron con agua e hipoclorito sódico, se secaron y cortaron con guillotina en rodajas, descartando las rodajas superior e inferior del fruto. Se eliminaron la parte central y la piel de cada rodaja, y se cortó la pulpa en cubos de 15 mm de lado aproximadamente, los cuales se envasaron en bolsas de plástico tipo Doypack® de 110 x 220 mm, y se sellaron, eliminando el aire de forma

manual. Cada bolsa contenía 80 g de caqui aproximadamente (Figura 22). Los tratamientos de APH se llevaron a cabo en un equipo de alta presión Alsthom (Gec Alsthom ACB 900 HP, type ACIP 665, Nantes, France), a 25°C y según las condiciones de presión y tiempo seleccionadas tras realizar un diseño experimental de Metodología de Superficie de Respuesta (MSR) por el grupo de investigación del entonces Instituto del Frío también involucrado en el proyecto AGL2008-04798-C02-01. Así, se trabajó con dos presiones distintas (200 y 400 MPa) y, para cada presión, se ensayaron tres tiempos (1, 3 y 6 minutos). De esta forma se obtuvo un total de 28 muestras diferentes (14 para cada uno de los estados de maduración) (Tabla 1). El procesamiento con APH se llevó a cabo en las instalaciones del Instituto del Frío del CSIC (actualmente ICTAN).



Figura 21. Sistemas de APH utilizados en el procesamiento de caqui.

Tras el tratamiento de APH, las muestras se almacenaron a 4°C y, pasadas 24 h, fueron estabilizadas con nitrógeno líquido y almacenadas a -80°C. Estas muestras fueron utilizadas para conocer la influencia que tienen las condiciones de presión y tiempo de los tratamientos de APH, en el caqui “*Rojo Brillante*” sobre la astringencia y el estado de maduración. De esta forma, tras los resultados obtenidos para las muestras de este primer procesamiento por APH y, teniendo en cuenta los análisis sobre microestructura, fenoles y carotenoides (realizados por los otros dos grupos de investigación participantes en el proyecto en el que se enmarca esta Tesis doctoral), los integrantes del proyecto establecieron como condiciones óptimas el tratamiento de APH de 200 MPa a 3 y 6 minutos. A esta presión, se observó que un tiempo inferior a 3 minutos no es suficiente para la difusión del material soluble, y por otra parte, una presión más

Tabla 1. Muestras obtenidas para estudiar los efectos de las APH y de los grados de astringencia y maduración.

Maduración III	Maduración V	Código Tablas	Código dendrograma*
A - Control	A - Control	A-C	1/15
A - 200 MPa/1 min/25°C	A - 200 MPa/1 min/25°C	A-200/1	2/16
A - 200 MPa/3 min/25°C	A - 200 MPa/3 min/25°C	A-200/3	3/17
A - 200 MPa/6 min/25°C	A - 200 MPa/6 min/25°C	A-200/6	4/18
A - 400 MPa/1 min/25°C	A - 400 MPa/1 min/25°C	A-400/1	5/19
A - 400 MPa/3 min/25°C	A - 400 MPa/3 min/25°C	A-400/3	6/20
A - 400 MPa/6 min/25°C	A - 400 MPa/6 min/25°C	A-400/6	7/21
NA - Control	NA - Control	NA-C	8/22
NA - 200 MPa/1 min/25°C	NA - 200 MPa/1 min/25°C	NA-200/1	9/23
NA - 200 MPa/3 min/25°C	NA - 200 MPa/3 min/25°C	NA-200/3	10/24
NA - 200 MPa/6 min/25°C	NA - 200 MPa/6 min/25°C	NA-200/6	11/25
NA - 400 MPa/1 min/25°C	NA - 400 MPa/1 min/25°C	NA-400/1	12/26
NA - 400 MPa/3 min/25°C	NA - 400 MPa/3 min/25°C	NA-400/3	13/27
NA - 400 MPa/6 min/25°C	NA - 400 MPa/6 min/25°C	NA-400/6	14/28

Número de muestras: 28

*Maduración III/V

elevada provoca excesiva degradación en el tejido. Además, se seleccionó el caqui astringente de maduración III como el más adecuado para sufrir el tratamiento de APH, quedando descartados los frutos más maduros (astringentes y no astringentes) por perder integridad al someterles a presión, ya que los frutos de partida se encuentran muy deteriorados. Asimismo, se descartó el caqui no astringente de maduración III, por presentar menor extractabilidad de compuestos bioactivos que el fruto astringente.



Figura 22. Aspecto de las muestras de caqui antes (izq.) y después (dcha.) de aplicar APH. En la imagen, se observan caquis no astringentes control y tratado con 400 MPa/1 min.

Caquis para estudio de tratamientos combinados de altas presiones hidrostáticas-temperatura:

Para estudiar cómo influye el aumento de la temperatura del tratamiento de APH en el caqui, se trabajó con caquis astringentes en estado de maduración III, aplicando 200 MPa (3 y 6 minutos) a 25°C y 37°C.

Caquis para estudio del almacenamiento en refrigeración:

En noviembre de 2010 se llevó a cabo un segundo procesado de caqui “*Rojo Brillante*” con APH, con la finalidad de realizar un estudio de almacenamiento a 4°C (Tabla 2), y así evaluar los frutos tratados por los métodos combinados de altas presiones/temperatura/tiempo. En este contexto, se empleó caqui “*Rojo Brillante*” de estado de maduración III y astringente (sin tratamiento post-cosecha de eliminación de la astringencia). La preparación previa al tratamiento por APH fue equivalente a la llevada a cabo en el primer procesado de muestra.

Respecto a las APH, todas las muestras fueron sometidas a tratamientos a 37°C, empleándose 200 MPa y tiempos largos de 3 y 6 minutos, lo que generó las siguientes tres muestras:

C: control (muestra sin tratamiento de APH)

T1: 200 MPa/3 min/37°C

T2: 200 MPa/6 min/37°C

En lo relativo al estudio de almacenamiento en cámara a 4°C, se establecieron cinco días de toma de muestra a los 0, 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento en frío. De esta forma, al tener dos tratamientos de APH y un período de conservación en cámara fría en el que se muestreaba cinco veces, se obtuvo un total de 15 muestras diferentes. Finalmente, y a modo de post-tratamiento, los días de toma de muestra los frutos se estabilizaron con nitrógeno líquido y se almacenaron a -80°C hasta su uso.

Tabla 2. Muestras obtenidas para estudiar el almacenamiento en refrigeración.

Muestra	Días	Código
A-C	0	A-C, D0
	7	A-C, D7
	14	A-C, D14
	21	A-C, D21
	28	A-C, D28
A-200/3	0	A-T1, D0
	7	A-T1, D7
	14	A-T1, D14
	21	A-T1, D21
	28	A-T1, D28
A-200/6	0	A-T2, D0
	7	A-T2, D7
	14	A-T2, D14
	21	A-T2, D21
	28	A-T2, D28

Liofilización, molienda y tamizado de las muestras

Una parte de cada una de las muestras de caqui previamente congelado en nitrógeno líquido se liofilizó (liofilizador Cryodos, Telstar) durante 72 h. Transcurrido ese tiempo las muestras se molieron, tamizaron (0,5 mm de luz de malla) y conservaron en refrigeración (4°C) para su posterior análisis.

2. MÉTODOS

Humedad

El contenido en agua de los alimentos está relacionado con su actividad de agua, es decir, con la cantidad de agua libre que puede reaccionar con otras sustancias y provocar el crecimiento microbiano (iberfluid, 2015). La humedad de los frutos de caqui se determina por triplicado a partir de muestra fresca mediante pesada, con una precisión de $\pm 0,1$ mg, antes y después del secado en estufa a 65°C y presión atmosférica, hasta que el peso de la muestra es constante. La humedad se expresa en g H₂O/100 g mf.

Fibra alimentaria

El contenido de fibra alimentaria y sus fracciones de fibra insoluble (FI) y fibra soluble (FS) se determinan según el método enzimático-gravimétrico 991.43 de la AOAC (1995), si bien existen otros métodos analíticos que también permiten cuantificar los niveles de FA (Figura A.1. del Anexo). Con el método 991.43 la fibra se aísla como residuo indigestible al realizar una digestión enzimática secuencial con α -amilasa, proteasa y amiloglucosidasa, eliminando así el almidón y las proteínas. Se parte de 1 g de muestra liofilizada (se realizan seis repeticiones por muestra) y el digerido obtenido tras el tratamiento enzimático se filtra a través del sistema de filtración Fibertec-System, utilizando crisoles de porosidad n° 2 (40-100 μ m) que contienen 0,5 g de celite®. El residuo se lava con agua a 70°C y etanol (78 y 96%), se seca en estufa a 105°C durante 18 h, y finalmente se pesa con precisión de $\pm 0,1$ mg, obteniendo así el residuo gravimétrico insoluble (RGI). El contenido en FI se determina restando al RGI el contenido en proteína residual y cenizas. Para la FS el filtrado resultante de la determinación de la FI se precipita con etanol al 96% a 60°C. A continuación, se filtra, y el residuo se lava, seca y pesa siguiendo el mismo procedimiento que en el caso de la fibra insoluble. El contenido en fibra soluble se obtiene restando del residuo

gravimétrico soluble el contenido en proteína residual y cenizas. La determinación de las cenizas (en mufla a 525°C durante 4 h) y proteínas (Kjeldahl N x 6,25) se realiza sobre los RGs según los métodos oficiales 942.05 y 32.1.22 de la AOAC, respectivamente (AOAC, 1995).

Aunque se realizaron ensayos para evaluar si era factible determinar los contenidos de fibra alimentaria empleando un método en el que no se usaran enzimas (α -amilasa, proteasa y amiloglucosidasa), no se consiguieron resultados satisfactorios, ya que los niveles de FA obtenidos eran estadísticamente distintos respecto a los valores constatados con el método 991.43; en los frutos de caqui la cuantificación de FA sin el uso de enzimas conlleva obtener contenidos más bajos tanto de FI como de FS. Por lo tanto, para comparar los resultados de FA de este estudio con los valores obtenidos por otros autores, todas las determinaciones de fibra alimentaria se llevan a cabo según el método enzimático gravimétrico 991.43 de la AOAC.

La fibra total (FT) se calcula como la suma de FI y FS. Los valores de FA obtenidos se expresan tanto en mg/g ms como en mg/g mf. Los resultados se expresan en materia seca porque la muestra de partida está liofilizada, mientras que expresar los resultados en materia fresca se considera de interés para tener conocimiento del contenido de fibra en el fruto sin procesar.

Proteínas

El contenido de proteína residual de los RGs obtenidos en la determinación de fibra alimentaria se determina realizando una mineralización Kjeldahl previa a una determinación colorimétrica de nitrógeno (Bradstreet, 1965; Margesin y Schinner, 2005). La mineralización se lleva a cabo a temperatura elevada (100-350°C) con ácido sulfúrico concentrado, usando un catalizador de selenio. Así se consigue transformar el nitrógeno orgánico en amonio. Para determinar el amonio por colorimetría la muestra se trata, en medio alcalino y en presencia de nitroprusiato de sodio (catalizador), con hipoclorito (oxidante) y salicilato (fenol). Se obtiene un indofenol, compuesto de color azul-verdoso, cuya concentración se determina midiendo su absorbancia a 660 nm. La curva de calibrado se realiza con patrones que contienen 25, 50, 75, 100 y 150 mg N/L.

Siguiendo esta metodología se determina el contenido de nitrógeno total en el material de partida. Este nitrógeno representa principalmente el nitrógeno proveniente de las proteínas y, en menor medida, el nitrógeno no proteico, que está contenido en

moléculas como aminoácidos libres, péptidos de bajo peso molecular, aminas, amidas, nucleótidos, fosfolípidos y aminoazúcares. Por ello, para realizar la conversión de nitrógeno a proteína, se debe conocer el contenido de nitrógeno en las proteínas, lo que depende de la composición aminoacídica de las mismas. En promedio, en una proteína hay un 16% de nitrógeno, lo que supone que el contenido en proteínas de la muestra se calcule multiplicando por 6,25 la cantidad de nitrógeno obtenida tras la medida espectrofotométrica.

Contenido de RIA

Determinar el contenido del residuo insoluble en alcohol (RIA) de los caquis implica aislar el material de la pared celular (Figura 23), consiguiendo así un residuo rico en fibra alimentaria, cuyo valor debe ser similar al contenido de FT obtenido por el método 991.43 de la AOAC. La determinación del RIA consiste en extraer las paredes celulares según el método propuesto por Martín-Cabrejas y col. (1993), el cual se modifica eliminando las etapas de extracción a altas temperaturas para así minimizar la posible degradación que las altas temperaturas puedan provocar en los polisacáridos pécticos presentes en los frutos de caqui. Mediante este procedimiento los componentes de la pared celular se aíslan, ya que éstos son insolubles en alcohol, y los azúcares de bajo peso molecular se solubilizan. Es un procedimiento adecuado para la cuantificación de fibra en alimentos con bajos contenidos de almidón y proteínas (Benítez, 2011), tal y como ocurre en el caqui.



Figura 23. Liofilizado (izq.) y RIA (dcha.) de caqui “Rojo Brillante”.

A 4,5 g de muestra fresca congelada (-80°C) se le añaden 45 mL de etanol al 96% precalentado a 60°C , consiguiendo así que el proceso se lleve a cabo a temperatura ambiente. La muestra se homogeneiza con el Polytron (modelo PCU-2, Kinematica, Lucerna, Suiza) y se centrifuga a 4700 rpm durante 10 min. Tras la centrifugación el sobrenadante se descarta y el precipitado se extrae con 45 mL de etanol al 85% a

temperatura ambiente; se utiliza el Polytron al igual que en la primera extracción. La muestra resultante se vuelve a centrifugar, descartando nuevamente el sobrenadante y haciendo una nueva extracción, esta vez con 45 mL de etanol al 96% a temperatura ambiente. La muestra se centrifuga por última vez, y posteriormente se lleva a cabo otra extracción con etanol al 96%, empleando en este caso la mitad del volumen que en las etapas anteriores. Finalmente, la muestra se filtra a vacío a través de un crisol de porosidad n° 2 (40-100 μm). El sobrenadante etanólico se descarta, mientras que el precipitado se lava con acetona en una relación muestra inicial-acetona 1:1 (p/v) y se mantiene a temperatura ambiente durante 18 h. El residuo final así obtenido es el residuo insoluble en alcohol (RIA), cuyo contenido se cuantifica gravimétricamente. Se calcula el rendimiento del RIA expresando los resultados en mg/g ms y mg/g mf. Los resultados se refieren tanto a materia seca como a materia fresca para realizar la comparación con los resultados de FA.

Composición del RIA

Para conocer los polisacáridos mayoritarios de la pared celular de los caquis, se llevan a cabo hidrólisis ácidas que provocan la liberación de los principales componentes del RIA (azúcares neutros, ácidos urónicos y lignina Klason). Se sigue el método descrito por Jaime y col. (2002) con algunas modificaciones; el RIA se somete a dos hidrólisis, una hidrólisis secuencial con ácido sulfúrico 12 M y 0,6 M (hidrólisis fuerte, HF), y otra sólo con ácido sulfúrico 0,6 M (hidrólisis suave, HS). Con el ácido sulfúrico 12 M se consigue dispersar la celulosa, y con el ácido sulfúrico 0,6 M se realiza la hidrólisis propiamente dicha de los polisacáridos. En ambos hidrolizados se cuantifican azúcares neutros y ácidos urónicos, mientras que el residuo obtenido tras la hidrólisis 12 M corresponde a la lignina Klason. Los valores obtenidos se muestran en mg/g RIA; se hace referencia a la muestra de partida (RIA), porque lo que interesa es conocer la composición de la pared celular. Por lo tanto, en este apartado los resultados no se refieren ni a materia seca ni a materia fresca.

HF: al RIA ($100 \pm 0,1$ mg) se le adiciona H_2SO_4 12 M, y la muestra se mantiene en agitación magnética a temperatura ambiente durante 3 h. Posteriormente, la muestra se diluye añadiendo agua desionizada para así conseguir que la concentración de H_2SO_4 sea 0,6 M. A continuación, las muestras se colocan en termostato de bloque metálico (Selecta) a 100°C durante otras 3 h. Trascurrido el tiempo de hidrólisis, los hidrolizados se enfrían a temperatura ambiente durante 2 h, se adiciona eritritol (azúcar alcohol) como patrón interno, para llevar a cabo la determinación de azúcares neutros por

cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC), y finalmente se filtra a vacío a través de un crisol de porosidad nº 4 (10-16 μm). El residuo ácido insoluble que se recoge en el crisol se cuantifica gravimétricamente como lignina Klason, tras permanecer en estufa a 105°C durante 18 h. Se realizan tres repeticiones por muestra.

HS: al RIA ($100 \pm 0,1$ mg) se le adiciona H_2SO_4 0,6 M. La muestra se mantiene en termostato de bloque metálico a 100°C durante 3 h. Transcurrido este tiempo los hidrolizados se dejan enfriar a temperatura ambiente durante 2 h, se adiciona eritritol, y se filtra a vacío utilizando un crisol de porosidad nº 4. Se realizan tres repeticiones por muestra.

Determinación de azúcares neutros por HPLC

Para determinar los azúcares neutros presentes en el RIA se empieza neutralizando los hidrolizados empleando la resina de intercambio iónico AG4-X4 (Bio-Rad, CA, USA). El filtrado extraído de la resina se lleva a sequedad en rotavapor (R-124, Büchi, Suiza) y se redisuelve en agua desionizada, ajustando el pH a 6,5-7,5. A continuación, la muestra se filtra a través de un cartucho Sep-Pak C18 (Millipore, MA, USA) y un filtro Millex HV13 (0,45 μm) (Millipore, MA, USA), y se inyecta en el HPLC. El sistema analítico está constituido por una precolumna Carbo-P Refill (Aminex Carbo-P, Bio Rad, CA, USA) en serie con una columna de análisis de carbohidratos (Aminex HPX-87P, Bio Rad, CA, USA), que separa mezclas de mono- y disacáridos, eluyendo los disacáridos seguidos de los monosacáridos y, por último, los azúcares alcohol (Neilson y Marlett, 1983; Marlett y Navis, 1988; Wu, 1994). Se emplea agua desionizada filtrada (0,45 μm) y desgasificada por ultrasonidos como fase móvil, con flujo de trabajo de 0,5 mL/min, y eritritol como patrón interno. El volumen de inyección es de 100 μL , y el tiempo del cromatograma es de aproximadamente 30 min.

El HPLC utilizado es un equipo Beckman constituido por un inyector (507e autosampler), dos bombas de solvente (125 solvent module) que actúan en condiciones isocráticas, una interfase (Analog interface module 406, Beckman), y un detector de índice de refracción (156 refractive index detector). El control de los módulos, así como la cuantificación de los azúcares se llevan a cabo mediante el software System Gold versión 7.0 (Jaime y col., 2002).

Los picos cromatográficos se identifican por comparación de los tiempos de retención de los picos desconocidos con su correspondiente patrón de la curva de calibrado. Los patrones que se utilizan para calibrar las muestras consisten en una mezcla de azúcares

puros (Sigma-Aldrich, MO, USA) de celobiosa (Cel), glucosa (Glu), xilosa (Xil), galactosa (Gal), arabinosa (Ara) y manosa (Man). En el caso de la ramnosa y galactosa se produce coelución. Los tiempos de retención y los factores de respuesta del aparato se verifican, por medio de la inyección de un patrón cada 10 muestras.

Determinación colorimétrica de ácidos urónicos

La cuantificación de ácidos urónicos (AU) presentes en el RIA se realiza por colorimetría, utilizando m-hidroxidifenilo (MHDP) como reactivo colorimétrico y preparando rectas de calibrado con ácido galacturónico (Blumenkrantz y Asboe-Hansen, 1973).

Este análisis se lleva a cabo en medio ácido concentrado (tetraborato sódico 0,0125 M en ácido sulfúrico 95-98%), consiguiendo así hidrolizar el ácido poligalacturónico presente en los hidrolizados de RIA, lo que genera unidades de ácido galacturónico que se transforman en ácido 5-formilfuroico. Este compuesto se condensa con el reactivo colorimétrico (MHDP), específico para la reacción con ácidos urónicos, y forma complejos coloreados cuya absorbancia se mide a la longitud de onda de 520 nm. Para cada muestra se prepara un blanco en el que el MHDP es sustituido por la adición de un volumen igual de NaOH 0,5%, para así corregir el color resultante de los azúcares en presencia de la solución de ácido sulfúrico. Las disoluciones patrón de ácido galacturónico tienen concentraciones comprendidas entre 100-1000 mg/L.

Actividad enzimática PME

Para conocer la actividad PME del caqui se realiza una extracción de la enzima previa a la determinación de su actividad mediante valoración con pH-Stat, en base a los métodos descritos por Salvador y col. (2007), así como Stoforos y col. (2002), respectivamente. El análisis de esta enzima se lleva a cabo tras realizar una exhaustiva puesta a punto, en la que se determina la mejor manera de trabajar con los datos obtenidos tras la valoración automática llevada a cabo con el pH-Stat.

La extracción de la PME consiste en homogeneizar 5 g de muestra congelada (-80°C) en disolución tampón (pH 7,5) de Tris-HCl 0,2 M que contiene NaCl 1,5 M. Esta homogeneización se realiza con el Polytron (modelo PCU-2, Kinematica, Lucerna, Suiza). La muestra se deja reposar durante 1 h en cámara a 4°C, se centrifuga (15000 rpm, 15 min, 4°C), y se filtra a través de una malla de 100 µm; el precipitado se descarta y el sobrenadante se enrasa a 50 mL con el tampón de extracción. Es

importante que durante toda esta etapa de extracción la temperatura se mantenga a 4°C.

La determinación de la actividad PME consiste en realizar una valoración ácido-base de los grupos carboxílicos generados cuando la PME presente en el caqui desesterifica una solución de pectina. Para esta valoración el extracto enzimático se mezcla con suspensión de pectina de manzana al 0,5% (pH 7,0), disolución de NaCl 0,5 M y agua destilada. Antes de comenzar la valoración, el pH de la muestra se ajusta a 7,5; esta etapa de acondicionamiento de la muestra debe ser relativamente rápida, para lo cual es necesario establecer el flujo de la disolución de NaOH de manera que el pH de la muestra vaya aumentando progresivamente hasta alcanzar el valor 7,5 sin que se produzcan saltos bruscos ($dV/dt=0$). Se obtienen representaciones de volumen de NaOH (V) frente a tiempo (t) similares a la mostrada en la Figura 24. Este ajuste de pH se lleva a cabo a 25°C. Las condiciones de trabajo se han optimizado para las muestras de caqui y se recogen en el Anexo (Tablas de A.2. a A.7.)

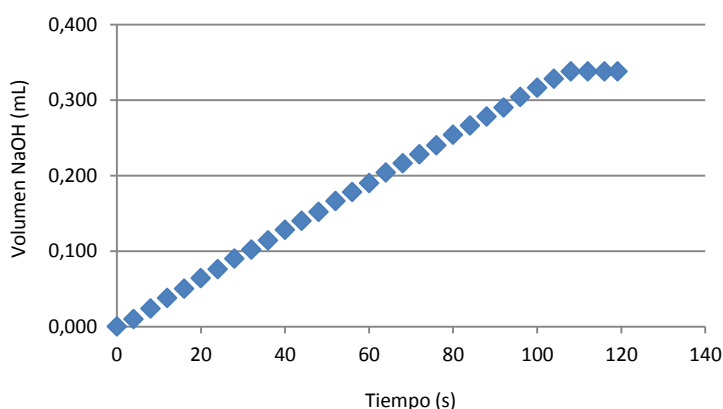


Figura 24. Acondicionamiento previo a la valoración ácido-base; ajuste del pH de la muestra a 7,5.

A continuación, se lleva a cabo la valoración ácido-base con el pH-Stat y utilizando como valorante NaOH 0,01 M. La valoración se realiza durante 30 min, y a una temperatura de trabajo de 25°C. El volumen de NaOH necesario para mantener el pH de la muestra en 7,5 se registra cada 15 s. Durante esta valoración se debe obtener una representación de pH frente a tiempo similar a la que se muestra en la Figura 25.

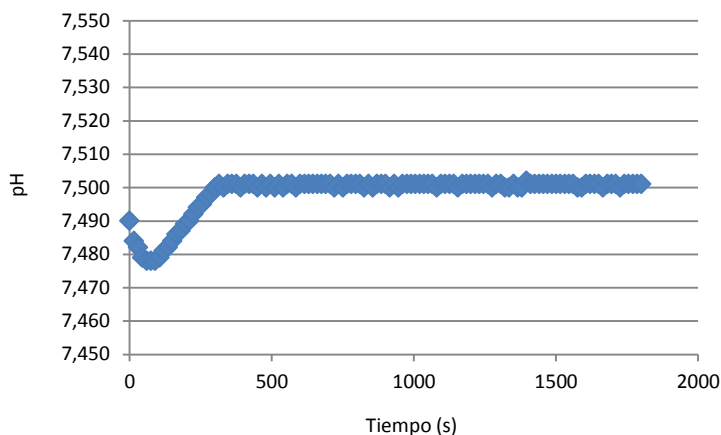


Figura 25. Valoración ácido-base con pH-Stat. Se adiciona NaOH para mantener el pH a 7,5.

Tal y como se observa en la Figura 25, en algunas muestras pueden obtenerse descensos de pH durante los primeros minutos de valoración, probablemente consecuencia de que entre la primera etapa (ajuste de pH a 7,5) y el comienzo de la volumetría, la PME ya está actuando sobre la solución de pectina adicionada como sustrato. Por lo tanto, para obtener datos representativos que permitan comparar los resultados obtenidos, tanto entre repeticiones de una misma muestra como entre muestras distintas, la cuantificación se realiza excluyendo los datos registrados durante los primeros 10 min de la valoración ácido-base.

De los datos registrados en la valoración entre los minutos 10 y 30, ambos inclusive, se calcula la pendiente de la recta obtenida al representar el volumen del valorante (NaOH) frente al tiempo de valoración, obteniendo así los μL NaOH adicionados por minuto. A partir de este resultado, y teniendo en cuenta la valoración tanto del blanco de muestra como del blanco de sustrato, se establece la actividad enzimática de la PME. Cabe indicar que la cuantificación de la actividad PME también se podría realizar utilizando los datos de dV/dt que proporciona el software del pH-stat, siendo necesario en este caso seleccionar previamente los datos. En este sentido, y en base a pruebas realizadas al respecto, se constata que para las muestras de caqui estudiadas, la aplicación de percentiles puede resultar adecuada. La selección de los datos mediante la eliminación de los valores de dV/dt que están por debajo del percentil 10 y por encima del percentil 90 conlleva, en la mayoría de las muestras, resultados satisfactorios de actividad PME similares a los obtenidos a partir de la pendiente de la recta ($V \text{ NaOH}$ vs t). No obstante, a la vista de los resultados obtenidos para cada uno de estos dos

criterios de cuantificación, se elige tener en cuenta la pendiente de la representación gráfica, ya que aporta resultados aparentemente más fiables; coeficientes de determinación (R^2) superiores a 0,99 en todas las muestras, mientras que la cuantificación a partir de los valores dV/dt en algunas valoraciones alcanzan coeficientes de variación elevados ($>10\%$).

La actividad enzimática PME se expresa como $\mu\text{mol ácido}/\text{min g mf}$. Es preciso indicar que se hace referencia a materia fresca por ser el tipo de muestra de la que se parte, si bien también podría resultar interesante referir los resultados a RIA, debido a la presencia que la PME tiene en la pared celular.

Actividad enzimática PG

La puesta a punto del método de determinación de la actividad poligalacturonasa (PG) supuso realizar ensayos con diferentes tampones de extracción en distintas concentraciones, modificando los volúmenes/concentraciones de extracto enzimático y sustrato, trabajando con muestras frescas y congeladas de tomate, zanahoria y otra variedad de caqui (Triumph) y, realizando curvas de calibrado con distintos rangos de concentración. Así, tras la puesta a punto se llega a las siguientes conclusiones:

- Se pueden utilizar frutos frescos o congelados.
- El tampón de extracción tiene que ser de citrato de sodio 0,1 M (pH 4,6) y debe contener polivinilpirrolidona (PVP) al 1%.
- Para la determinación hay que adicionar 100 μL de extracto enzimático a 300 μL de ácido poligalacturónico 0,2% (sustrato) en tampón acetato (pH 4,4).
- El tiempo de reacción tiene que ser de 3 h y la temperatura 30°C.
- La actividad enzimática PG se expresa como nmoles de ácido galacturónico por minuto y g de materia fresca, liberados del ácido poligalacturónico cuando actúa sobre él la enzima PG.
- La curva de calibrado tiene que tener una concentración de ácido galacturónico comprendida entre 0 y 1250 nmoles por mL.
- Hay que considerar blancos.

A la vista de las observaciones realizadas durante la puesta a punto, y teniendo en cuenta el procedimiento seguido por Salvador y col. (2007), se procede a determinar la actividad enzimática PG realizando la extracción de dicha enzima seguida de la cuantificación de su actividad por espectrofotometría a 276 nm. La extracción se lleva

a cabo en medio ácido (tampón de citrato 0,1 M; pH 4,6) y reductor (β -mercaptoetanol), con NaCl, PVP y EDTA.

El β -mercaptoetanol se usa como agente reductor, para evitar la oxidación de los grupos sulfhidrilo de la PG (Payasi y Sanwal, 2003; Prasanna y col., 2006), mientras que el NaCl se emplea para solubilizar, por efecto de la fuerza iónica, a la enzima PG que está asociada a la pared celular. Como en el material vegetal existen compuestos fenólicos y proteasas que pueden inhibir la actividad enzimática, la disolución extractante también contiene PVP (compleja los compuestos fenólicos) y EDTA (inhibe la proteasa y compleja el calcio de la pared celular solubilizando las pectinas que interaccionan entre sí mediante enlaces iónicos). Además, se usan columnas de filtración en gel que contienen Sephadex G-25 (PD-10 Desalting Columns, GE Healthcare Bio-Sciences AB, Suecia) cuyas características se muestran en la Tabla A.1. del Anexo, y que separan de manera eficiente moléculas pequeñas como sales y otras impurezas de las sustancias de interés de alto peso molecular.

La extracción se realiza a partir de 5 g de caqui fresco congelado a -80°C , adicionando el tampón de extracción y homogeneizando con el Polytron (modelo PCU-2, Kinematica, Lucerna, Suiza). Se comprueba que el pH es de 4,6, ajustándolo si fuera necesario. La muestra resultante se agita durante 1 h a 70 rpm en un agitador de volteo (REAX-2, Heidolph, Alemania). A continuación, se deja reposar 15 min en cámara a 4°C y se filtra a vacío con papel Whatman 1. El sobrenadante se lleva a 25 mL con el tampón de extracción, y el precipitado se descarta. El extracto enrasado se pasa a través de la columna de Sephadex G-25, obteniendo así el extracto enzimático de PG purificado.

La determinación de la actividad PG se lleva a cabo cuantificando espectrofotométricamente con 2-cianoacetamida los azúcares reductores (ácido galacturónico) generados tras la acción de la PG sobre una solución de ácido poligalacturónico añadida como sustrato; método descrito por Gross (1982) y modificado por Salvador y col. (2007). El extracto enzimático se mezcla con una solución de ácido poligalacturónico, llevando a cabo la reacción en baño de agua a 30°C durante 3 h. La reacción se detiene con tampón de borato (100 mM; pH 9,0) a 4°C , y se adiciona la disolución de 2-cianoacetamida. Las muestras, tras permanecer 10 min en un baño de agua a 100°C , se dejan enfriar y se mide su absorbancia a 276 nm. Se utilizan patrones de ácido galacturónico en el intervalo de 0 a 1250 nmol AGA/mL, y se tienen en cuenta los siguientes blancos:

- Blanco de enzima y sustrato: tampón acetato 37,5 mM (pH 4,4).
- Blancos de enzima: tampón acetato con solución de ácido poligalacturónico 0,2% en tampón acetato.
- Blanco sustrato: extracto enzimático PG con tampón acetato.

Se trabaja con tres repeticiones por muestra y, entre cuatro y seis réplicas por repetición. La actividad enzimática de la PG se expresa en nmoles de ácido galacturónico liberados por minuto y g de materia fresca inicial a 30°C (nmol AGA/min g mf a 30°C).

Grado de metilesterificación de las pectinas

La determinación del grado de metilesterificación (GM) de los polisacáridos pécticos (Ng y Waldron, 1997) consiste en llevar a cabo la desesterificación de las pectinas presentes en el RIA, seguida de la cuantificación del metanol liberado durante dicha reacción.

Las pectinas presentes en 5 mg de RIA se desesterifican utilizando NaOH 2 M. Posteriormente, la determinación del metanol se lleva a cabo tras su oxidación a aldehído, debido a la adición de alcohol oxidasa. Finalmente, se añade 2,4-pentandiona y se mide la absorbancia de la muestra a 412 nm. La curva de calibrado se realiza con metanol (0-0,8 mM) en tampón fosfato. Se preparan blancos de muestra. El GM se expresa referido a ácido galacturónico (mol MeOH/100 mol AGA), puesto que lo que interesa es conocer cómo de metilesterificadas están las pectinas. No obstante, en los estudios tanto del efecto de los tratamientos combinados de APH-temperatura como del efecto del almacenamiento en refrigeración, los resultados se refieren a RIA ($\mu\text{mol MeOH/g RIA}$), ya que en esas muestras no se han cuantificado los ácidos urónicos, y expresarlos en RIA es la opción más próxima, además de que el RIA es la muestra de partida sobre la que se realiza la cuantificación del GM.

Propiedades tecnofuncionales

Las propiedades tecnofuncionales son propiedades físico-químicas que proporcionan información sobre cómo puede comportarse un componente en particular (carbohidrato, proteína) en una matriz alimentaria. Dichas propiedades se establecen por la composición y estructura molecular de los componentes individuales y de las interacciones que se establecen entre ellos (Kinsella, 1976).

El estudio de las propiedades físico-químicas se lleva a cabo empleando muestras tanto de RIA como de caqui liofilizado. Dichas propiedades fueron puestas a punto por nuestro grupo de investigación (Benítez y col., 2011, 2012). Se utilizan celulosa y pectina de manzana como controles de referencia. Se realizan tres repeticiones por muestra.

- **Densidad aparente**

La densidad aparente (DA) se relaciona con el volumen ocupado por la muestra, incluyendo el volumen de las partículas y los espacios disponibles entre las mismas. En una probeta de 10 mL, previamente pesada, se introduce la muestra hasta el aforo de 10 mL, compactándola mediante pequeños golpes, así como con la ayuda de una varilla. La probeta se pesa y se determina el volumen que alcanza la muestra. La densidad aparente se expresa en gramos de muestra por mililitro (g/mL).

- **Capacidad de retención de aceite**

La capacidad de retención de aceite (CRAc) se determina adicionando 20 mL de aceite de girasol a 0,2 g de muestra. Se mantiene en agitación durante 30 min, y se centrifuga a 4750 rpm durante 30 min. Después de centrifugar se mide el volumen del sobrenadante. Por diferencia entre el volumen inicial de aceite y el volumen que se recupera, se halla la capacidad de retención de aceite expresada en mL/g.

- **Capacidad de gelificación**

Se preparan suspensiones de la muestra al 2, 3, 4, 8, 12 y 14 % (p/v) en agua destilada, y se introducen en un baño de agua a 100°C durante 1 h, y a continuación se traspasan a un baño de hielo durante 1 h. La capacidad de gelificación se determina como la mínima concentración de gelificación (MCG) a la que la muestra no se desliza por las paredes al invertir los tubos.

- **Propiedades de hidratación**

Entre las propiedades tecnofuncionales destacan aquellas que están relacionadas con el agua, ya que desarrollan un papel importante en los principales cambios que tienen lugar durante el procesamiento de alimentos (McWatters, 1983).

Capacidad de absorción de agua

La capacidad de absorción de agua (CAA) se define como la cantidad de agua que permanece unida al material hidratado tras la aplicación de una fuerza externa.

A 0,2 g de muestra se le añaden 20 mL de agua destilada y se mantiene en agitación durante 1 h. A continuación, la muestra se centrifuga a 4750 rpm durante 30 min. Se mide el volumen del sobrenadante después de centrifugar. Por diferencia entre el volumen inicial de agua y el volumen que se recupera después de la centrifugación, se determina la capacidad de absorción de agua expresada en mL/g.

Capacidad de retención de agua

La capacidad de retención de agua (CRA) se define como la habilidad del material húmedo para retener agua cuando el material ha sido sometido a fuerzas centrífugas externas o de compresión; por lo tanto, es la suma del agua enlazada, agua hidrodinámica y agua atrapada físicamente, siendo esta última la que mayor contribución aporta a esta capacidad. Se suele considerar a las proteínas como las principales responsables de la CRA en los alimentos (Hutton y Campbell, 1981).

A 0,2 g de muestra se le adicionan 20 mL de agua destilada y se mantiene en agitación durante 24 h. Transcurrido ese tiempo la muestra se centrifuga a 4750 rpm durante 30 min. Se mide el volumen del sobrenadante después de centrifugar. Por diferencia entre el volumen inicial de agua y el volumen que se recupera después de la centrifugación, se determina la capacidad de retención de agua expresada en mL/g.

Capacidad de hinchamiento

La capacidad de hinchamiento se define como la relación entre el peso húmedo del gel sedimentado y su peso en seco. Suele relacionarse con la amilopectina así como con las uniones que se establecen entre el agua y las proteínas solubles.

En un tubo graduado de 10 mL se introduce muestra hasta el aforo de 1 mL y se pesa. El tubo se llena con agua destilada hasta 10 mL, y se agita suavemente. Se deja reposar durante 16 h para que la muestra se hidrate. Transcurrido ese tiempo se mide el volumen final que ocupa la muestra, y la capacidad de hinchamiento (CH) se expresa en mL/g. En las muestras de caqui se comprueba que reducir de 16 a 7 h la duración del tiempo de hidratación proporciona resultados similares, tanto en RIA como en liofilizado.

Estadística

El análisis estadístico de los datos experimentales obtenidos para cada una de las muestras (grupos de muestras constituidos por un mínimo de tres repeticiones) consiste en calcular estadísticos descriptivos (media y error típico) y aplicar análisis univariantes y análisis multivariantes que permiten comparar entre sí los grupos de muestras. También se calculan correlaciones de Spearman. Se utilizan los programas estadísticos SPSS 21.0, Infostat 2014e y R-project.

Como métodos de **análisis univariante** se aplican análisis de varianza, para lo cual se comienza constatando si se cumplen los requisitos de normalidad de los datos y homogeneidad de las varianzas. Tal y como se observa en la Figura 26, determinar la normalidad permite conocer si el método estadístico que se debe aplicar es paramétrico o no paramétrico, mientras que estudiar la homogeneidad de las varianzas conlleva seleccionar la prueba estadística apropiada cuando se aplica un método paramétrico.

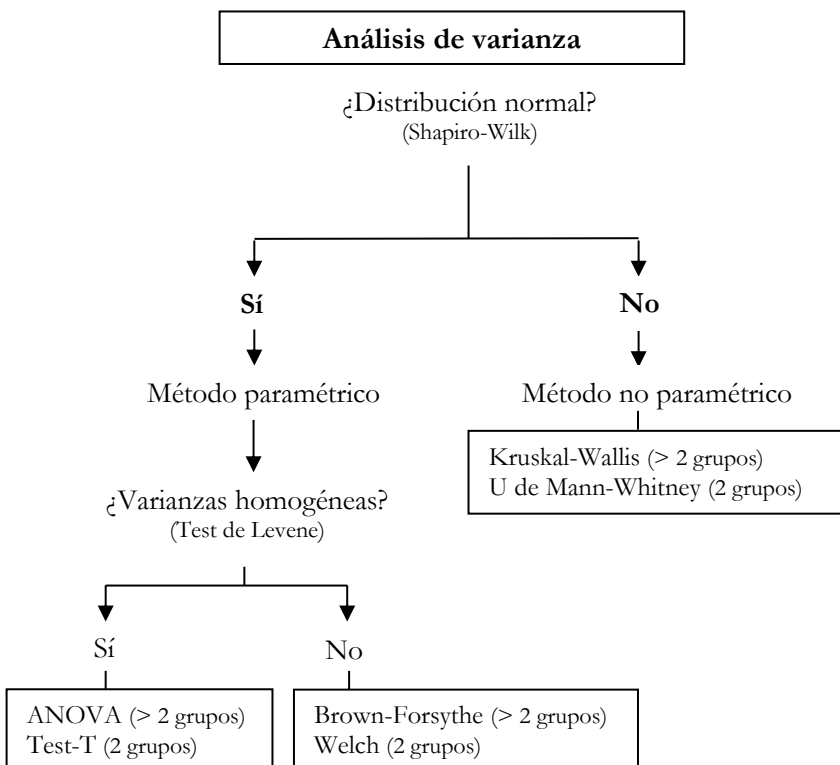


Figura 26. Esquema utilizado para seleccionar el análisis de varianza.

La normalidad de los datos en cada grupo de muestra se estudia aplicando el test de Shapiro-Wilk, ya que los tamaños de muestra son relativamente pequeños (tres repeticiones en la mayoría de las determinaciones); los datos se ajustan a una distribución normal cuando el nivel de probabilidad (p) es mayor de 0,05. Por otra parte, la homogeneidad de la varianza entre los grupos de muestras se estudia mediante la prueba de Levene; cuando la probabilidad es mayor de 0,05 existe homogeneidad de las varianzas.

Como análisis de varianza paramétricos se aplican el análisis de varianza de un factor (ANOVA) y el test-T para muestras independientes, siempre que las varianzas sean homogéneas entre los grupos de muestras. El ANOVA se utiliza cuando es necesario comparar entre sí más de dos grupos, mientras que el test-T se aplica cuando sólo interesa comparar dos grupos de muestras. Aplicar el ANOVA conlleva determinar la homogeneidad de las medias entre distintos grupos de muestras; cuando al menos existe una media que es estadísticamente diferente, se realiza un análisis post hoc para clasificar las muestras en grupos con medias homogéneas. El análisis post hoc utilizado es el test de Duncan. Para muestras en las que se cumple el requisito de normalidad, pero no la homogeneidad de las varianzas, se aplican el test de Welch y el test de Brown-Forsythe, para dos y más de dos grupos de muestras, respectivamente. Por otra parte, se aplican la prueba de Kruskal-Wallis y la U de Mann-Whitney cuando es necesario utilizar métodos no paramétricos. De este modo, se pretende constatar si existen diferencias significativas ($p \leq 0,05$) entre las muestras de caqui estudiadas.

El **análisis multivariante** sólo se lleva a cabo con las muestras del primer procesado de caquis con APH, ya que se considera interesante comprobar si existe similitud entre muestras que no se pueden comparar mediante la aplicación de los análisis univariantes, porque entre ellas existe más de una característica diferente (ej. distinto estado de maduración y tratamiento de APH). De este modo se alcanza una visión más general del efecto que las APH, los estados de maduración y grados de astringencia tienen sobre los frutos de caqui. En concreto, se obtienen conglomerados jerárquicos (dendrogramas) mediante la aplicación del método de Ward y el cálculo de la distancia euclídea al cuadrado; las muestras se van agrupando por etapas de tal manera que en cada una de ellas, se unen los dos conglomerados (grupos) para los cuales se tiene el menor incremento en el valor total de la suma de los cuadrados de las diferencias, dentro de cada conglomerado, de cada individuo al centroide del conglomerado (ugr, 2015). La elección del número de grupos en los que se divide el dendrograma se lleva a cabo teniendo en cuenta el punto en el que se produce un salto brusco al comparar

entre sí los coeficientes del historial de conglomeración obtenidos; se consiguen dendrogramas de 2, 3 y 4 grupos, cada uno de los cuales engloba muestras con medias similares. Una vez establecido el número de conglomerados del dendrograma, se aplica el conglomerado de K-medias y las muestras se redistribuyeron entre los grupos en el caso de que los resultados sean distintos a los observados al aplicar el conglomerado jerárquico.

Resultados y discusión

CAPÍTULO 1: ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS EN CAQUIS ROJO BRILLANTE DE DISTINTA MADURACIÓN Y ASTRINGENCIA

1. FIBRA ALIMENTARIA

Fibra Alimentaria de Caquis sin Tratamiento de APH

En este apartado, los resultados de fibra alimentaria (FA) de los caquis sin tratamiento de APH (controles) se comentan primero para maduración III y después para maduración V, comenzando en ambos casos por los caquis astringentes (A) y continuando con los caquis no astringentes (NA). De este modo, se generan cuatro bloques (A, III; NA, III; A, V; NA, V) en los que los resultados se analizan siguiendo una misma estructura; se establecen los contenidos de fibra total (FT), fibra insoluble (FI) y fibra soluble (FS), así como la relación FS:FI, comentando brevemente los contenidos de los residuos gravimétricos (RGI y RGS) y proteína residual cuando se consideran relevantes. Además, en los bloques de caquis no astringentes (NA, III; NA, V) se estudia el efecto de la eliminación de la astringencia con CO₂, mientras que en los bloques de maduración V (A, V; NA, V) se muestra el efecto de la maduración.

- **Caqui astringente control de maduración III**

El caqui astringente control de maduración III (A-C, III) presenta un contenido de FT de 199 mg/g ms (Tabla 3), constituido principalmente por FI (74%), y en menor medida por FS (26%) (Figura 27). A la vista de la literatura (Gorinstein y col., 1999, 2001; Leontowicz y col., 2002; Park y col., 2006; Dong y col., 2008; Colin-Henrion y col., 2009; Elleuch y col., 2011; Dhingra y col., 2012), el contenido de FT cuantificado en el caqui es entre 2 y 6 veces mayor que el de otras frutas como ciruelas, melocotones, manzanas, mangos, piñas y naranjas, así como entre 2 y 3 veces mayor que el nivel de FT del caqui astringente de la variedad Triumph. Por el contrario, la guayaba (Gorinstein y col., 1999) tiene mayor contenido de FT (65% más elevado) que el caqui “*Rojo Brillante*” (A-C, III), si bien los kiwis y las peras (Barroca y col., 2006; Dhingra y col., 2012) muestran niveles similares a los obtenidos en este estudio. Además, la comparación de los resultados de este estudio con la bibliografía muestra que en el caqui las fracciones de FA se distribuyen de manera similar a la mayoría de las frutas, pero los resultados son contrarios a los encontrados en ciruelas, naranjas y guayabas, ya que en estas frutas predomina la FS.

La FI se obtiene al corregir el residuo gravimétrico insoluble (RGI) (174 mg/g ms) con la proteína residual (26 mg/g ms) asociada a dicho residuo (Tabla 3), de manera que entre los contenidos de FI y RGI sólo existe una diferencia del 15%, correspondiente a proteínas que probablemente no han sido solubilizadas durante el tratamiento enzimático y, por tanto, quedan adheridas a la matriz. En el caso de la fracción soluble, se establece mayor diferencia (20%) entre el nivel del residuo gravimétrico soluble (RGS) (64 mg/g ms) y la FS (51 mg/g ms); puede que la precipitación de la fracción soluble haya sido incompleta y que exista coprecipitación, tanto de las enzimas utilizadas en el tratamiento enzimático como de proteínas del caqui (A-C, III) que se solubilizan durante la digestión enzimática y posteriormente precipitan con la FS, formando así parte del contenido de proteínas cuantificado (13 mg/g ms) (Esteban y col., 1998). Estos resultados de fibra provocan que la relación entre fibra soluble y fibra insoluble (FS:FI) sea de 1:2,9 (Tabla 3). Esta relación entre las fracciones de FA es similar a la que se puede encontrar en manzanas (Colin-Henrion y col., 2009).

- **Caqui no astringente control de maduración III**

Los niveles de FT (214 mg/g ms), FI (168 mg/g ms) y FS (46 mg/g ms) del caqui no astringente control de maduración III (NA-C, III) se muestran en la Tabla 3. Estos resultados revelan que los contenidos de FT y FS son similares a los valores encontrados en el caqui astringente (A-C, III), pero que el contenido de FI se incrementa significativamente tras haber aplicado el tratamiento de CO₂ (**efecto eliminación de la astringencia en maduración III**), debido a la disminución significativa de proteína residual. En relación a estos resultados, se debe tener en cuenta que el tratamiento de eliminación de la astringencia con CO₂ insolubiliza las proantocianidinas solubles presentes en el fruto (Jeong y col., 2001; Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b), favoreciendo así la presencia de estos compuestos en la fracción insoluble de la fibra (Sáyago-Ayerdi y Goñi, 2010), lo que conlleva que el porcentaje de FI (79%) aumente frente a la FS (21%) (Figura 27).

En definitiva, en caquis de maduración III la eliminación de la astringencia con CO₂ no influye ni en el contenido de FT ni en la fracción de FS, pero provoca incrementos de la FI, de manera que el tratamiento con CO₂ disminuye la solubilidad de la fibra alimentaria, posiblemente por mayor presencia de proantocianidinas insolubles en la FI en comparación con el contenido de estos compuestos polifenólicos presentes en el caqui astringente (A-C, III).

Tabla 3. Fibra alimentaria en caquis sin tratamiento de APH (controles) (mg/g ms).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
A-C, III	173,5 ± 7,2 ^a _a	25,7 ± 0,9 ^a _a	147,8 ± 6,3 ^b _a	63,5 ± 2,2 ^a _a	12,9 ± 1,0 ^a _a	50,7 ± 1,2 ^a _a	198,5 ± 6,5 ^a _a	1:2,9
NA-C, III	189,5 ± 5,3 ^a _a	21,8 ± 1,0 ^b _a	167,7 ± 4,4 ^a _a	61,0 ± 3,0 ^a _a	15,1 ± 0,7 ^a _a	46,0 ± 2,3 ^a _a	213,6 ± 4,9 ^a _a	1:3,6
A-C, V	158,7 ± 2,8 ^a _a	23,8 ± 1,5 ^a _a	134,9 ± 1,7 ^a _a	62,1 ± 0,4 ^a _a	14,6 ± 0,1 ^b _a	47,5 ± 0,3 ^a _a	182,4 ± 1,4 ^a _a	1:2,8
NA-C, V	168,4 ± 7,8 ^a _a	24,0 ± 1,7 ^a _a	144,5 ± 6,3 ^a _b	49,2 ± 1,0 ^b _b	15,8 ± 0,1 ^a _a	33,4 ± 1,0 ^b _b	177,9 ± 5,3 ^a _b	1:4,3

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto eliminación de la astringencia: diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V); Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V, para muestras con igual astringencia (A ó NA); Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

• **Caqui astringente control de maduración V**

Continuando con los controles y atendiendo al proceso de maduración de los caquis astringentes (**efecto maduración de caquis astringentes**), se constata que el caqui astringente control de maduración V (A-C, V) presenta, respecto al caqui de maduración III (A-C, III), contenidos similares tanto de FT (182 mg/g ms) como de FI (135 mg/g ms) y FS (48 mg/g ms) (Tabla 3), no existiendo diferencias significativas ni en los residuos gravimétricos (RGI y RGS) ni en las proteínas asociadas a estos residuos. Tal y como queda reflejado en la Figura 27 y en la Tabla 3, la contribución de cada una de las fracciones de fibra al total (74% FI, 26% FS) y la relación FS:FI (1:2,8) son similares a las observadas en el fruto menos maduro (A-C, III), lo que indica que la fracción insoluble (FI) continúa siendo mayoritaria, incluso cuando el fruto se encuentra en un estado de maduración más avanzado (V). Estos resultados parecen mostrar que, con el avance de la maduración, la solubilización de pectinas debida a las enzimas de la pared celular (Ali y col., 2004; Vaclavik y Christian, 2008; Brown, 2014) se compensa con la insolubilización de proantocianidinas (Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b), de manera que los contenidos de FI y FS se mantienen sin variaciones significativas respecto a los niveles de fibra alimentaria constatados en el caqui menos maduro (A-C, III).

Por lo tanto, a la vista de estos resultados, se pone de manifiesto que la maduración de caquis astringentes no cambia ni los contenidos de FT, FI y FS, ni la relación FS:FI.

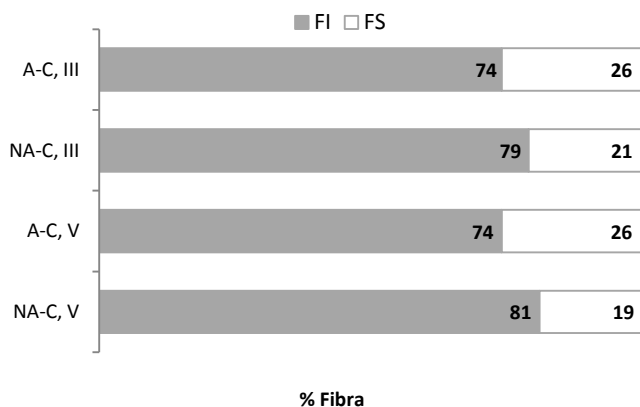


Figura 27. Contribución (%) de cada fracción (FI, FS) a la FT en caquis sin tratamiento de APH.

- **Caqui no astringente control de maduración V**

El caqui no astringente control de maduración V (NA-C, V) muestra un contenido de FT de 178 mg/g ms, acompañado por niveles de FI y FS de 145 y 33 mg/g ms, respectivamente, siendo la relación FS:FI de 1:4,3 (Tabla 3). Por lo tanto, atendiendo a los cambios producidos al eliminar la astringencia (**efecto eliminación de la astringencia en maduración V**), se constatan respecto al caqui astringente (A-C, V), contenidos similares de FT y FI, así como niveles parecidos de RGI y proteína residual asociada, acompañados por un descenso significativo del contenido de FS, encontrado también en el RGS. Esta pérdida de FS queda reflejada en un importante cambio de la relación FS:FI (de 1:2,8 a 1:4,3).

El contenido de FI no parece reflejar la insolubilización de proantocianidinas debida al tratamiento con CO₂, que según Vázquez-Gutiérrez y col. (2012b) parece producirse, ya que esta fracción de FA no se incrementa de manera significativa al tratar el fruto con CO₂. En lo relativo a la FS, el contenido de esta fracción de FA disminuye por solubilización de pectinas, posiblemente por pérdida de los azúcares neutros de las cadenas laterales de las pectinas (Seymour y col., 1990; Redgwell y col., 1992), consecuencia de una mayor actividad de las enzimas presentes en la pared celular, tal como se mostrará en los apartados 3 y 4 de este capítulo.

Por otra parte, en la Tabla 3 también se muestra que, en relación a la maduración de caquis no astringentes (**efecto maduración de caquis no astringentes**), con el avance de la maduración, tanto los contenidos de FI como de FS disminuyen significativamente, originando un descenso significativo del contenido de FT, si bien la relación FS:FI no se modifica de manera destacable (de 1:3,6 a 1:4,3). Esta reducción del contenido de fibra alimentaria parece corresponderse con la degradación del tejido y pérdida de cohesividad constatadas por Vázquez-Gutiérrez y col. (2012b).

Por lo tanto, en caquis de maduración V, la eliminación de la astringencia con CO₂ no modifica los contenidos de FT y FI, pero provoca disminución del nivel de FS. Además, con la maduración de caquis no astringentes se pierde FT, así como FI y FS, lo que genera que la relación FS:FI no varíe de manera destacable frente al caqui no astringente de maduración III.

Por otra parte, cabe indicar que cuando los resultados de FA se expresan en **materia fresca** (mg/g mf) (Tabla A.8. del Anexo), se pueden establecer comentarios similares

que en materia seca. Como única diferencia se encuentra que la maduración de caquis no astringentes sólo genera descensos significativos de FT y FS.

- **Conclusiones parciales**

Atendiendo a los resultados obtenidos en los caquis control astringentes (A-C, III/V) y no astringentes (NA-C, III/V), se concluye que eliminar la astringencia de los caquis modifica el contenido de fibra insoluble y fibra soluble, cuando los estados de maduración son III y V, respectivamente, lo que queda reflejado en la redistribución de fibra soluble a fibra insoluble. Sin embargo, en relación a la maduración, sólo cuando el caqui es no astringente (NA) los contenidos de fibra alimentaria (FT, FI y FS) se reducen, aunque la contribución de cada fracción de fibra a la fibra total no se modifica de manera destacable.

Fibra Alimentaria de Caquis Tratados con APH

Los resultados de fibra alimentaria (FA) de los caquis tratados con APH se distribuyen en cuatro bloques (A, III; NA, III; A, V; NA, V), comparando en todos los casos los resultados de los caquis tratados con APH respecto al control correspondiente. La discusión de los resultados se realiza del siguiente modo: primero se muestran los contenidos de fibra total (FT), y se indica cuál es la fracción de fibra mayoritaria. Después se comentan los resultados de fibra insoluble (FI) y de fibra soluble (FS), y se establece la relación FS:FI. Asimismo, cuando resulta relevante, se fijan los parámetros maduración, astringencia y presión, para realizar la comparación entre tiempos de tratamiento. Además, en los bloques de caquis no astringentes (NA, III; NA, V) se estudia el efecto que la eliminación de la astringencia con CO₂ tiene sobre los contenidos de FA, mientras que en los bloques de maduración V (A, V; NA, V) se comenta el efecto de la maduración sobre los niveles de FA.

- **Caquis astringentes de maduración III (A, III)**

Tratamientos de APH frente al control

El estudio realizado para conocer los contenidos de FA de muestras tratadas con APH pone de manifiesto (Tabla 4) que en los caquis astringentes de maduración III (A, III) no existen diferencias significativas entre los niveles de FT de las muestras tratadas con APH (200 mg/g ms, valor medio) y el control (A-C, III) (199 mg/g ms), siendo la FI la fracción de fibra mayoritaria (77-84% del total) (Figura 28). Trabajos realizados por

Tabla 4. Fibra alimentaria en caquis astringentes de maduración III (A, III) (mg/g ms).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
A-C	173,5 ± 7,2BCD	25,7 ± 0,9A	147,8 ± 6,3B	63,5 ± 2,2A	12,9 ± 1,0BC	50,7 ± 1,2A	198,5 ± 6,5A	1:2,9
A-200/1	195,2 ± 3,6A ^a _a	27,3 ± 1,4A ^a _a	167,9 ± 2,3A ^b _a	50,2 ± 0,9CD ^a _b	14,2 ± 0,6ABC ^a _a	36,0 ± 0,7C ^a _b	203,9 ± 2,9A ^b _a	1:4,7
A-200/3	171,7 ± 1,3CD ^a _a	22,0 ± 0,2A ^b _a	149,7 ± 1,2B ^b _a	57,4 ± 2,0B ^a _b	15,6 ± 0,3AC ^a _a	41,8 ± 1,7B ^a _b	191,6 ± 1,7A ^a _a	1:3,6
A-200/6	189,0 ± 6,4ABC ^a _a	25,3 ± 1,5A ^b _a	163,7 ± 5,1AB ^a _a	47,2 ± 1,1D ^a _b	13,6 ± 0,3BC ^b _a	33,7 ± 0,8CD ^a _b	197,3 ± 5,6A ^a _a	1:4,9
A-400/1	193,0 ± 10,9AB ^a _a	28,0 ± 1,4A ^a _a	165,0 ± 9,5AB ^a _a	46,1 ± 2,1D ^a _a	14,5 ± 0,4AB ^a _a	31,5 ± 2,3D ^a _a	196,5 ± 10,4A ^a _a	1:5,2
A-400/3	202,2 ± 6,6A ^b _a	26,3 ± 1,3A ^b _a	175,9 ± 5,3A ^a _a	53,6 ± 1,2BC ^a _a	12,6 ± 0,3C ^a _a	41,0 ± 0,9B ^a _a	216,9 ± 4,9A ^a _a	1:4,3
A-400/6	167,5 ± 3,1D ^b _a	18,8 ± 0,0B ^b _a	148,7 ± 3,1B ^b _a	57,6 ± 0,7B ^a _a	13,9 ± 0,1ABC ^a _b	43,7 ± 0,7B ^a _a	192,4 ± 3,8A ^b _a	1:3,4

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla 5), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla 6), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

otros autores (Wennberg y Nyman, 2004; Mateos-Aparicio y col., 2010; Briones-Labarca y col., 2011; Núñez-Mancilla y col., 2014; Elizondo-Montemayor y col., 2015) revelan que en col blanca, okara, manzana, fresa y mango la aplicación de APH también mantiene los niveles de FT que presenta la muestra sin tratar. Por el contrario, aplicar APH en pimientos conlleva pérdida del contenido de FT, tal y como ponen de manifiesto Hernández-Carrión y col. (2014b). Cabe resaltar la importancia del estudio que se presenta en esta memoria sobre el efecto que las APH tienen sobre la FA de los caquis “*Rojo Brillante*”, ya que hasta la fecha sólo existía un trabajo (Hernández-Carrión y col., 2014c) en el que se mostraba la influencia que ejerce la aplicación de un tratamiento concreto (200 MPa/6 min/25°C) a caquis astringentes de maduración IV sobre los niveles de FT y FI, de manera que no se plasmaba la influencia ni de los grados de maduración y astringencia ni tampoco la relevancia que puede tener la selección del tratamiento de APH.

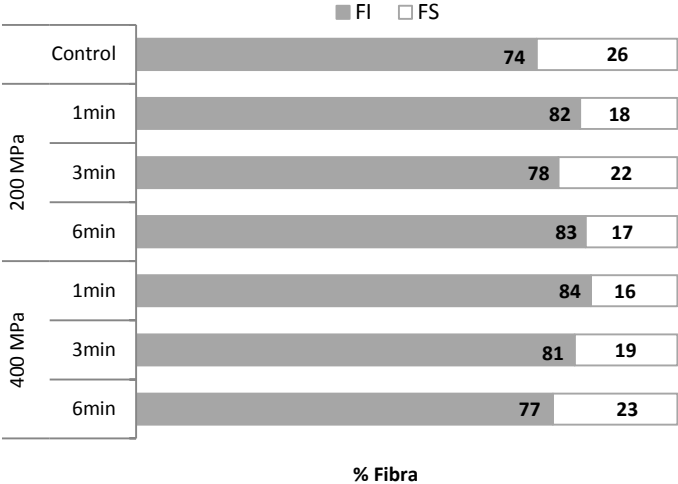


Figura 28. Contribución (%) de cada fracción (FI, FS) a la FT en caquis astringentes de maduración III.

Aunque en las muestras tratadas con APH (A, III) y en el control (A-C, III) la contribución de cada una de las fracciones (FI, FS) al contenido de FT pueda parecer similar (Figura 28), en la Tabla 4 se muestra que, en relación a la **fibra insoluble**, no todos los tratamientos de APH mantienen el contenido de FI del caqui control (A-C, III); la aplicación de los tratamientos 200 MPa/1 min y 400 MPa/3 min provoca incrementos significativos (14 y 19% de incremento, respectivamente) en comparación con los 148 mg/g ms de FI del control (A-C, III). Estos aumentos del contenido de FI son debidos a aumentos significativos de los RGIs, que se podrían asociar con mayor

presencia de proantocianidinas insolubles en la FI (Bindon y col. 2012). Los incrementos de FI concuerdan con los resultados encontrados en col blanca por Wennberg y Nyman (2004), si bien esta tendencia es contraria a la constatada en pimiento (Hernández-Carrión y col., 2014b) y okara (Mateos-Aparicio y col., 2010). De igual modo, los resultados obtenidos en los caquis tratados con 200 MPa/1 min y 400 MPa/3 min difieren de los que se consiguen cuando las APH se aplican a mangos (Elizondo-Montemayor y col., 2015) y fresas (Núñez-Mancilla y col., 2014), donde las muestras sometidas a APH tienen el mismo contenido de FI que la muestra sin tratar.

En lo que respecta a la **fibra soluble** en la Tabla 4 se observa que la aplicación de APH a caquis astringentes de maduración III conlleva reducciones significativas de esta fracción de fibra (14-38% de reducción) respecto al control (A-C, III) (51 mg/g ms), alcanzando el valor más bajo al aplicar 400 MPa/1 min (32 mg/g ms). Las diferencias observadas en los contenidos de FS también quedan reflejadas en los RGSs, que disminuyen significativamente en los caquis tratados con APH.

Esta reducción del contenido de FS debida a las APH podría asociarse con descenso del contenido de taninos solubles; las proantocianidinas se insolubilizarían al interactuar con la pared celular, consecuencia de que las APH provocan la dispersión de los componentes intracelulares a través del tejido, tal como revelan varios estudios (Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b, 2013; Hernández-Carrión y col., 2014a). No obstante, en el estudio de Vázquez-Gutiérrez y col. (2012b) se observa que la insolubilización de taninos es menos efectiva al aplicar 400 MPa, lo que supone que el descenso de FS constatado en los caquis astringentes (A, III) sometidos a esta presión se podría atribuir también a la degradación y/o solubilización de pectinas, ocasionada en parte por las enzimas de la pared celular, tal y como quedará reflejado en los apartados 3 y 5 de este capítulo. Wennberg y Nyman (2004) también observaron pérdida del contenido de FS al aplicar APH, e indicaron que los cambios constatados en los contenidos de FI y FS son debidos a que existe redistribución de moléculas de pectina soluble (principalmente homogalacturonanos) en moléculas de pectina insoluble. Sin embargo, estudios llevados a cabo por otros autores revelan que la aplicación de APH puede reducir el nivel de FS sin modificar el contenido de FI (Hernández-Carrión y col., 2014b), o incluso provocar una redistribución en la que la FI se transforma en FS (Mateos-Aparicio y col., 2010). También existen estudios realizados en fresas (Núñez-Mancilla y col., 2014) y mangos (Elizondo-Montemayor y col., 2015) donde se constata que aplicar APH no modifica los niveles de ninguna de las fracciones de la FA. Por lo tanto, los diferentes efectos que provocan los

tratamientos de APH sobre los contenidos de fibra alimentaria parecen estar condicionados no sólo a las combinaciones de presión/tiempo y temperatura, sino también a la matriz vegetal e incluso a las enzimas presentes en la pared celular.

Estos resultados conducen a relaciones FS:FI distintas en los caquis tratados con APH que en el caqui control (A-C, III), llegando a alcanzar relaciones próximas a 1:5 cuando se aplican 200 MPa/1-6 min y 400 MPa/1 min, consecuencia de que en estas muestras hay mayor presencia de FI y un nivel de FS significativamente menor que en el control.

Presión frente a tiempos de tratamiento

Atendiendo a la duración de los tratamientos de APH, en la Tabla 4 se observa que con **200 MPa** no existen diferencias significativas en la FT entre los tres tiempos estudiados. No obstante, los resultados de FI muestran que esta fracción de FA disminuye significativamente al prolongar la duración del tratamiento de 1 a 3 min, lo que se corresponde con un aumento significativo de FS, si bien este incremento de FS sólo supone el 32% de la pérdida de FI. Los resultados de las fracciones de FA quedan reflejados en relaciones FS:FI próximas a 1:5 para tiempos de 1 y 6 min.

Cuando la presión aplicada es de **400 MPa**, se observa que los niveles de FT también son similares entre las muestras tratadas durante 1, 3 y 6 min. El descenso significativo de FI encontrado entre tiempos de tratamiento al aplicar 200 MPa, también se constata con 400 MPa, pero entre tiempos más largos (3 y 6 min). No obstante, este descenso del contenido de FI no va acompañado por un aumento de FS.

Los resultados obtenidos en los caquis astringentes de maduración III muestran que los cambios constatados en los contenidos de fibra alimentaria al aplicar APH están más relacionados con la fibra soluble que con la fibra insoluble, ya que para todos los tratamientos de APH estudiados, la FS disminuye respecto al control (A-C, III), mientras que los contenidos de FI, y en consecuencia los de FT, se mantienen sin variaciones, excepto cuando se aplican tratamientos de 200 MPa/1 min y 400 MPa/3 min, que aumentan el contenido de FI. Por lo tanto, la aplicación de APH a caquis astringentes de maduración III provoca la redistribución de FS a FI, es decir, disminución de la solubilidad de la FA, que tiene su máximo efecto al aplicar 400 MPa/1 min, y que puede relacionarse con la presencia de proantocianidinas en la fibra, así como con degradación y/o solubilización de pectinas.

Expresar los resultados de FA en **materia fresca** (mg/g mf) (Tabla A.9 del Anexo) conduce a comentarios equivalentes a los realizados para materia seca, si bien existen algunas diferencias. Una de ellas consiste en que la mayoría de los tratamientos de APH incrementan el contenido de FI de los caquis astringentes de maduración III, encontrando que sólo al aplicar 200 MPa/3 min y 400 MPa/6 min se mantienen los niveles de FI del control (A-C, III). Otra diferencia se encuentra al comparar entre sí los tres tratamientos de 200 MPa, ya que se observan valores similares de FI entre los tres tiempos, no encontrando pérdida de FI al pasar de 1 a 3 min.

- **Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)**

Tratamientos de APH frente al control

La Tabla 5 muestra que el contenido de FT de los caquis no astringentes de maduración III tratados con APH (216 mg/g ms, valor medio) no presenta diferencias significativas respecto al nivel de FT del control (NA-C, III) (214 mg/g ms), y que la FI vuelve a ser la fracción de fibra mayoritaria (82-88% del total) (Figura 29). Esta tendencia es similar a la encontrada tanto en caquis astringentes (A, III) como en estudios llevados a cabo por otros autores (Wennberg y Nyman, 2004; Mateos-Aparicio y col., 2010; Hernández-Carrión y col., 2014c; Núñez-Mancilla y col., 2014).

Atendiendo a los niveles de fibra de cada una de las fracciones (Tabla 5), el análisis estadístico revela que la **fibra insoluble** de todas las muestras tratadas con APH (184 mg/g ms, valor medio) es similar al nivel de FI hallado en el control (NA-C, III) (168 mg/g ms), ya que si bien las muestras tratadas durante de 3 y 6 min presentan contenidos de proteína residual significativamente más elevados (entre 95-98% de incremento) que la muestra control (NA-C, III), en todos los casos los RGIs son similares. En relación a estos resultados, se debe tener en cuenta que la insolubilización de taninos ocasionada por el tratamiento con CO₂ conlleva que el posible efecto que las APH tienen sobre la reducción de la solubilidad de la FA disminuya, y como consecuencia no se observen incrementos significativos de FI respecto a la muestra control (NA-C, III). Al igual que ocurre en los caquis no astringentes de maduración III, la aplicación de APH a pimientos, fresas y mangos tampoco parece provocar cambios significativos en los contenidos de FI, tal y como se observa en la bibliografía (Hernández-Carrión y col., 2014b; Núñez-Mancilla y col., 2014; Elizondo-Montemayor y col., 2015).

Tabla 5. Fibra alimentaria en caquis no astringentes de maduración III (NA, III) (mg/g ms).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
NA-C	189,5 ± 5,3A	21,8 ± 1,0B	167,7 ± 4,4A	61,0 ± 3,0A	15,1 ± 0,7B	46,0 ± 2,3A	213,6 ± 4,9A	1:3,6
NA-200/1	208,4 ± 6,4A ^a _a	21,7 ± 1,8B ^a _b	186,8 ± 4,6A ^a _a	52,2 ± 3,5B ^a _a	12,1 ± 0,9C ^a _a	40,1 ± 2,8AB ^a _a	226,8 ± 3,3A ^a _a	1:4,7
NA-200/3	229,9 ± 13,9A ^a _a	43,0 ± 2,9A ^a _a	186,8 ± 11,0A ^a _a	39,1 ± 2,2C ^b _b	14,8 ± 0,8B ^a _a	24,2 ± 1,6E ^b _b	211,1 ± 10,9A ^a _a	1:7,7
NA-200/6	213,0 ± 7,4A ^a _a	42,6 ± 0,9A ^a _a	170,4 ± 6,5A ^a _a	50,5 ± 0,7B ^a _a	18,6 ± 0,2A ^a _a	31,9 ± 0,9CD ^a _a	202,3 ± 7,0A ^a _a	1:5,3
NA-400/1	208,3 ± 4,4A ^a _a	26,0 ± 1,5B ^a _a	182,2 ± 3,1A ^a _a	46,1 ± 2,5BC ^a _a	9,6 ± 0,2D ^b _b	36,5 ± 2,3BC ^a _a	218,8 ± 5,3A ^a _a	1:5,0
NA-400/3	236,7 ± 6,8A ^a _a	43,1 ± 3,1A ^a _a	193,5 ± 6,9A ^a _a	45,5 ± 2,4BC ^b _a	13,3 ± 0,5BC ^a _b	32,2 ± 2,4CD ^b _a	225,7 ± 9,1A ^a _a	1:6,0
NA-400/6	227,6 ± 7,7A ^a _a	42,9 ± 2,1A ^a _a	184,8 ± 5,8A ^a _a	42,4 ± 0,8C ^b _a	14,1 ± 0,7B ^a _a	28,3 ± 0,4DE ^b _a	213,1 ± 6,1A ^a _a	1:6,5

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla 4) y NA, para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla 7), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

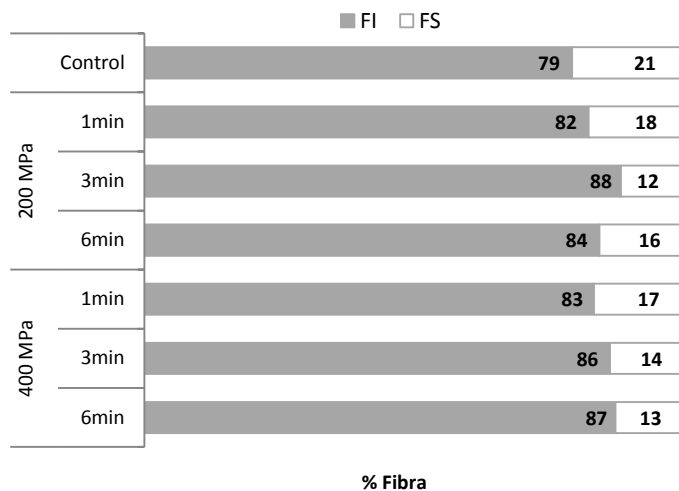


Figura 29. Contribución (%) de cada fracción (FI, FS) a la FT en caquis no astringentes de maduración III.

En relación a la **fibra soluble**, los tratamientos de APH parecen degradar el contenido de FS, puesto que, excepto en los caquis tratados con 200 MPa/1 min, en el resto de las muestras sometidas a APH los niveles de FS son significativamente más bajos (31 mg/g ms, valor medio) que en el control (NA-C, III) (46 mg/g ms). Las reducciones de FS no están compensadas con aumentos significativos de FI. Las mayores pérdidas de FS se alcanzan al aplicar 200 MPa/3 min y 400 MPa/6 min; 47 y 39% de reducción, respectivamente. Estas variaciones de FS se deben, principalmente, a descensos significativos de los RGSs. Esta pérdida de FS constatada en los caquis (NA, III), que no va acompañada por incrementos significativos de FI, también parece producirse cuando se aplican presiones de hasta 300 MPa a pimientos (Hernández-Carrión y col., 2014b).

Estos resultados de FI y FS conllevan relaciones FS:FI distintas a la relación 1:3,6 que presenta el control (NA-C, III), destacando una relación próxima a 1:8 cuando se aplican 200 MPa/3 min.

Efecto eliminación de la astringencia en maduración III

Cuando estas muestras no astringentes tratadas con APH (NA, III) (Tabla 5) se comparan con sus respectivas muestras astringentes (A, III) (Tabla 4) es interesante destacar que, en relación a la FT, la tendencia de similitud que se había detectado entre controles (A/NA-C, III), en general, se repite entre caquis astringentes y no astringentes para todos los tratamientos de APH; sólo para 200 MPa/1 min y 400

MPa/6 min se constatan niveles significativamente más altos de FT en los caquis no astringentes (NA, III) (incrementos del 11%).

Respecto a las fracciones de FA (Tablas 4 y 5), se observa que cuando se aplican los tratamientos 200 MPa/6 min y 400 MPa/1-3 min el contenido de FI es independiente de la astringencia de los caquis. Sin embargo, con 200 MPa/1-3 min y 400 MPa/6 min se detectan niveles significativamente más altos de FI en los frutos no astringentes (NA, III). La tendencia observada en la FS sólo muestra, para las combinaciones 200 MPa/3 min y 400 MPa/3-6 min, valores de FS significativamente más bajos en los caquis no astringentes (NA, III), permaneciendo sin cambios para el resto de los tratamientos de APH. De este modo, los resultados obtenidos en las fracciones de FI y FS corroboran los contenidos de FT. Asimismo, atendiendo a la relación FS:FI, cabe mostrar que al aplicar APH a caquis previamente tratados con CO₂, la relación FS:FI de estos frutos (NA, III) sólo varía cuando los tratamientos aplicados son 200 MPa/3 min y 400 MPa/3-6 min; para el resto de tratamientos no hay cambios destacables entre muestras astringentes y no astringentes de maduración III.

En resumen, al aplicar APH a caquis no astringentes de maduración III se obtienen respecto al control (NA-C, III) niveles similares de FT y FI, pero contenidos más bajos de FS, que se reflejan en una redistribución de FS a FI. Esta modificación de la contribución de cada una de las fracciones a la FT es máxima cuando se aplican 200 MPa/3 min. La comparación de caquis de maduración III y distinta astringencia (A/NA, III) revela, en general, niveles similares tanto de FT como de FI, encontrando contenidos más elevados en las muestras no astringentes sólo con las combinaciones presión/tiempo bajas y con el tratamiento más drástico. Esta comparación, de caquis con igual tratamiento de APH y diferente astringencia, también constata que los frutos no astringentes pierden FS cuando la duración del tratamiento de APH es relativamente alta, lo que conlleva que la relación FS:FI de estas muestras no astringentes de maduración III se aleje de la relación más adecuada (1:2).

Cuando los resultados de FA se expresan en **materia fresca** (mg/g mf) (Tabla A.10 del Anexo) se llegan a establecer comentarios equivalentes. Como única diferencia se puede indicar que, en lo relativo al efecto que tiene eliminar la astringencia de caquis de maduración III, el nivel de FT de los caquis no astringentes sólo se incrementa al aplicar 200 MPa/1 min.

- **Caquis astringentes de maduración V (A, V)**

Tratamientos de APH frente al control

Cuando los tratamientos de APH se aplican a caquis astringentes de maduración V, en la Tabla 6 se observa que los frutos tienen un nivel de FT (178 mg/g ms, valor medio) similar al valor del caqui control (A-C, V) (182 mg/g ms), y que la FI sigue apareciendo como fracción mayoritaria (72-79% del total) (Figura 30). Esta tendencia es similar a la observada tanto en caquis de maduración III (A/NA, III) como en estudios llevados a cabo por otros autores (Wennberg y Nyman, 2004; Mateos-Aparicio y col., 2010; Hernández-Carrión y col., 2014c; Núñez-Mancilla y col., 2014).

En relación a los contenidos de fibra de cada una de las fracciones (Tabla 6), se constata que la **fibra insoluble** de las muestras sometidas a APH (133 mg/g ms, valor medio) no difiere significativamente del contenido de FI del control (A-C, V) (135 mg/g ms), tendencia similar a la observada en los caquis no astringentes (NA, III), y que también han constatado otros autores al aplicar APH a vegetales (Hernández-Carrión y col., 2014b, 2014c; Núñez-Mancilla y col., 2014; Elizondo-Montemayor y col., 2015). En los caquis astringentes (A, V), los resultados de FI son debidos a que tanto los RGIs como los contenidos de proteína residual son similares entre las muestras tratadas con APH y el control (A-C, V).

La **fibra soluble** también muestra valores similares entre los caquis tratados con APH y el caqui control, y sólo parece degradarse al aplicar 400 MPa/1 y 3 min, ya que los frutos sometidos a estos tratamientos de APH exhiben niveles de FS significativamente más bajos (37 mg/g ms, valor medio) que el contenido de FS del control (A-C, V) (48 mg/g ms). Estos descensos de FS, que son debidos a disminuciones significativas del RGS (400 MPa/1 min) y a la proteína residual (400 MPa/3 min), son comparables a los encontrados en la bibliografía (Hernández-Carrión y col., 2014b; Núñez-Mancilla y col., 2014; Elizondo-Montemayor y col., 2015).

Por otra parte, al comparar la relación FS:FI de muestras tratadas con APH frente a la relación del control (A-C, V) (1:2,8), se pone de manifiesto que sólo al aplicar 400 MPa/1 min la relación FS:FI pasa a ser próxima a 1:4.

Tabla 6. Fibra alimentaria en caquis astringentes de maduración V (A, V) (mg/g ms).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
A-C	158,7 ± 2,8A	23,8 ± 1,5A	134,9 ± 1,7A	62,1 ± 0,4A	14,6 ± 0,1B	47,5 ± 0,3AB	182,4 ± 1,4AB	1:2,8
A-200/1	161,0 ± 9,6A ^b _b	24,6 ± 1,7A ^a _a	136,4 ± 7,9A ^b _b	57,0 ± 2,2AB ^a _a	12,7 ± 0,8BC ^a _a	44,4 ± 1,4BC ^a _a	180,7 ± 7,6AB ^a _b	1:3,1
A-200/3	151,5 ± 3,7A ^b _b	21,3 ± 1,0A ^b _a	130,2 ± 2,7A ^b _b	63,9 ± 1,1A ^a _a	12,9 ± 0,9BC ^a _b	51,0 ± 1,5A ^a _a	181,3 ± 3,6AB ^a _a	1:2,6
A-200/6	165,9 ± 8,8A ^a _a	21,2 ± 1,3A ^b _a	144,7 ± 8,0A ^a _a	62,9 ± 2,6A ^a _a	10,3 ± 0,9D ^b _b	52,7 ± 2,7A ^a _a	197,3 ± 6,2A ^a _a	1:2,7
A-400/1	154,3 ± 4,4A ^b _b	20,6 ± 1,8A ^a _b	133,8 ± 2,8A ^b _b	47,8 ± 2,6B ^a _a	13,2 ± 0,1B ^a _b	34,6 ± 2,5D ^a _a	168,4 ± 4,4B ^a _a	1:3,9
A-400/3	147,9 ± 5,1A ^b _b	20,1 ± 1,5A ^b _b	127,8 ± 4,1A ^a _b	50,7 ± 0,8AB ^a _a	11,1 ± 0,2CD ^b _b	39,6 ± 0,6CD ^a _a	167,4 ± 3,5B ^a _b	1:3,2
A-400/6	146,7 ± 5,8A ^b _b	20,2 ± 0,7A ^b _a	126,5 ± 5,5A ^b _b	64,6 ± 3,6A ^a _a	17,2 ± 0,7A ^a _a	47,4 ± 3,0AB ^a _a	173,9 ± 8,5B ^a _a	1:2,7

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla 7), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla 4) y V, para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

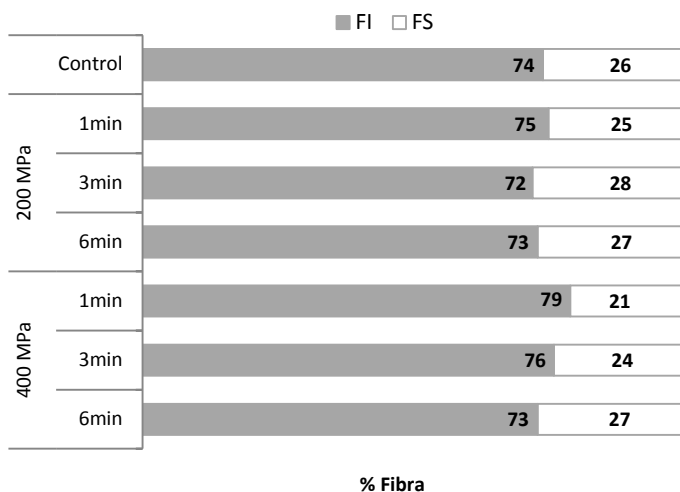


Figura 30. Contribución (%) de cada fracción (FI, FS) a la FT en caquis astringentes de maduración V.

Presión frente a tiempos de tratamiento

De los resultados de FS es interesante destacar que, tanto para **200 MPa** como **400 MPa**, prolongar la duración del tratamiento de APH aumenta significativamente el contenido de FS (15-20%); el incremento se produce entre 1-3 min para 200 MPa y 3-6 min para 400 MPa (Tabla 6).

Efecto maduración en caquis astringentes

Atendiendo a la influencia que el grado maduración de los caquis astringentes (A, III/V) tiene en los tratamientos de APH (Tablas 4 y 6), los resultados revelan que, en general, el efecto que los tratamientos de APH tienen sobre la FT es independiente del estado de maduración del caqui astringente (A, III/V), ya que sólo para 200 MPa/1 min y 400 MPa/3 min la aplicación de APH supone un descenso significativo del contenido de FT en los caquis más maduros (A, V) en comparación con los caquis menos maduros (A, III). Por lo tanto, la mayoría de los tratamientos de APH mantienen la tendencia hallada para FT entre muestras astringentes control de maduración III y V (A-C, III/V) (Tabla 3).

Por otra parte, en lo relativo a las fracciones de FA (Tablas 4 y 6), en primer lugar se observa que la aplicación de un mismo tratamiento de APH a caquis astringentes de distinta maduración (A, III/V) muestra niveles de FI significativamente distintos entre las muestras, siendo los frutos menos maduros (III) los más susceptibles de aumentar

la fracción de FI. Estos valores significativamente mayores de FI, debidos al RGI, se detectan en los caquis de maduración III sometidos a todos los tratamientos de APH, excepto a 200 MPa/6 min; este tratamiento de 200 MPa mantiene la tendencia que se había encontrado entre los controles (A-C, III/V). En segundo lugar, los resultados de FS reflejan que, si bien entre los controles (A-C, III/V) no se habían detectado diferencias significativas de FS, cuando la presión aplicada es de 200 MPa se obtienen valores de FS significativamente más bajos en los caquis menos maduros (A, III), en comparación con los resultados obtenidos en los caquis más maduros (A, V). En lo que respecta a la relación FS:FI, se constata que, para todos los tratamientos de APH, los caquis de maduración III son los que presentan la mayor presencia de FI.

En definitiva, al aplicar APH a caquis astringentes de maduración V y comparar los resultados con los niveles del control (A-C, V), se encuentran contenidos similares de FT y FI. Los valores de FS también son similares, excepto con los tratamientos de 400 MPa/1 y 3 min, que provocan disminuciones de esta fracción de FA. Por otra parte, al comparar caquis astringentes de distinta maduración (III, V), en general se observan niveles similares de FT y contenidos mayores de FI en los frutos menos maduros (III), para igual tratamiento de APH, lo que muestra que los tratamientos de APH implican insolubilización de la fibra. Estos resultados de FI van acompañados por valores de FS menores en caquis de maduración III, siempre que la presión aplicada sea de 200 MPa; mientras que la presión de 400 MPa tiene un efecto similar sobre el contenido de FS, cualquiera que sea el estado de maduración de los caquis.

En relación a los resultados de FA expresados en **materia fresca** (mg/g mf) (Tabla A.11 del Anexo), se ponen de manifiesto comportamientos similares a los observados en materia seca, excepto los relativos al efecto del estado de maduración de los caquis astringentes. En este caso se alcanzan niveles similares de FI, tanto en caquis de maduración III como V, con todos los tratamientos de APH, a excepción de cuando la duración del tratamiento es de 3 min. Asimismo, la FS de los caquis astringentes de maduración III en materia fresca es menor que la de los frutos de maduración V no sólo cuando se aplican 200 MPa, sino también cuando la combinación presión/tiempo es de 400 MPa/6 min.

- **Caquis no astringentes de maduración V (NA, V)**

Tratamientos de APH frente al control

El estudio de FA se finaliza comentando los resultados referentes a los caquis no astringentes de maduración V (NA, V) (Figura 31 y Tabla 7). El análisis estadístico refleja que el contenido de FT de las muestras tratadas con APH (184 mg/g ms, valor medio) es similar al nivel de FT del control (NA-C, V) (178 mg/g ms), donde la FI es la fracción de fibra mayoritaria (82-87% del total) (Figura 31), como en los bloques anteriores de muestras de caqui. Resultados similares han sido obtenidos por otros autores en estudios llevados a cabo tanto en frutas como en otros alimentos de origen vegetal (Wennberg y Nyman, 2004; Mateos-Aparicio y col., 2010; Briones-Labarca y col., 2011; Hernández-Carrión y col., 2014c; Núñez-Mancilla y col., 2014; Elizondo-Montemayor y col., 2015).

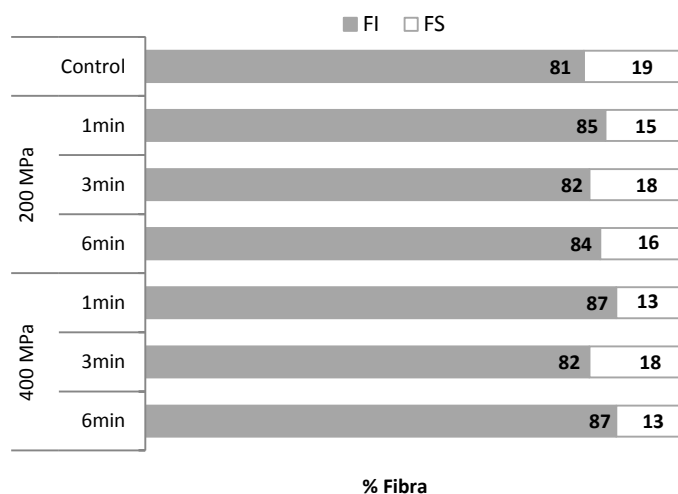


Figura 31. Contribución (%) de cada fracción (FI, FS) a la FT en caquis no astringentes de maduración V.

Atendiendo a los niveles de fibra de cada una de las fracciones (Tabla 7), en primer lugar se observa que sólo al aplicar 200 MPa/1 min y 400 MPa/6 min se consigue aumentar significativamente el contenido de **fibra insoluble** respecto al control (NA-C, V), con incrementos del 16 y 13%, respectivamente. Incrementos del nivel de FI también han sido observados por Wennberg y Nyman (2004) en col blanca. El resto de los tratamientos de APH no influyen de manera destacable sobre los contenidos de FI, ya que los niveles alcanzados (150 mg/g ms, valor medio) son similares

Tabla 7. Fibra alimentaria en caquis no astringentes de maduración V (NA, V) (mg/g ms).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
NA-C	168,4 ± 7,8A	24,0 ± 1,7BC	144,5 ± 6,3B	49,2 ± 1,0A	15,8 ± 0,1A	33,4 ± 1,0A	177,9 ± 5,3A	1:4,3
NA-200/1	197,6 ± 1,5A ^a _a	29,2 ± 0,3B ^a _a	168,3 ± 1,7A ^a _b	43,9 ± 2,1ABC ^b _a	14,4 ± 0,6A ^a _a	29,5 ± 1,5ABC ^b _b	197,8 ± 3,1A ^a _b	1:5,7
NA-200/3	190,8 ± 6,9A ^a _a	37,6 ± 1,6A ^a _a	153,3 ± 5,3AB ^a _b	49,1 ± 2,5A ^b _a	14,6 ± 0,5A ^a _a	34,5 ± 2,1A ^b _a	187,8 ± 3,3A ^a _a	1:4,4
NA-200/6	184,6 ± 12,5A ^a _a	39,3 ± 3,2A ^a _a	145,3 ± 9,3B ^a _a	42,7 ± 2,1BCD ^b _b	15,3 ± 0,4A ^a _b	27,4 ± 2,2BC ^b _a	172,7 ± 8,5A ^a _a	1:5,3
NA-400/1	179,9 ± 6,4A ^a _b	23,3 ± 1,4C ^a _a	156,7 ± 5,0AB ^a _b	38,5 ± 1,4CD ^b _a	14,3 ± 1,0A ^a _a	24,3 ± 0,5C ^b _b	181,0 ± 4,6A ^a _b	1:6,4
NA-400/3	178,6 ± 8,5A ^a _b	35,3 ± 2,1A ^a _a	143,3 ± 6,4B ^a _b	47,4 ± 1,6AB ^a _a	15,6 ± 0,1A ^a _a	31,9 ± 1,5AB ^b _a	175,2 ± 5,7A ^a _b	1:4,5
NA-400/6	204,0 ± 1,9A ^a _b	40,0 ± 0,3A ^a _a	164,0 ± 1,9A ^a _b	37,3 ± 1,8D ^b _a	12,8 ± 0,3A ^b _a	24,4 ± 1,7C ^b _a	188,5 ± 0,5A ^a _b	1:6,7

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla 6) y NA, para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla 5) y V, para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

al del control (NA-C, V) (145 mg/g ms); tendencia equivalente a la que observaron otros autores al aplicar APH a pimientos, fresas y mangos (Hernández-Carrión y col., 2014b; Núñez-Mancilla y col., 2014; Elizondo-Montemayor y col., 2015).

En segundo lugar, los tratamientos de APH afectan al contenido de **fibra soluble** de los caquis, degradando parte de esta fracción de fibra cuando se aplican 200 MPa/6 min y 400 MPa/1-6 min, ya que se observan reducciones significativas de FS (25 mg/g ms, valor medio) respecto al control (NA-C, V) (33 mg/g ms), debidas a descensos significativos de los RGSs. En los caquis tratados con 200 MPa/6 min y 400 MPa/1 min, la pérdida de FS no se contrarresta con el incremento de FI, lo que se asemeja al efecto que se produce al aplicar APH a pimientos (Hernández-Carrión y col., 2014b). En cambio, en los caquis sometidos a 400 MPa/6 min, el descenso de FS viene acompañado por el aumento significativo de FI, que podría suponer la insolubilización de la fibra. Esta redistribución de FS a FI también la observaron Wennberg y Nyman (2004) en col blanca.

Como consecuencia de estos resultados, y en comparación con el control (NA-C, V), las relaciones FS:FI que se obtienen con 200 MPa/1 min, así como con 400 MPa/1-6 min, son próximas a 1:7.

Presión frente a tiempos de tratamiento

En relación a la fracción de fibra insoluble, es interesante destacar que cuando la presión es de **200 MPa** el nivel de FI disminuye significativamente de 168 a 145 mg/g ms al prolongar la duración del tratamiento hasta 6 min. En cambio, con **400 MPa** la mayor pérdida de FI se alcanza con 3 min (de 157 a 143 mg/g ms).

Efecto eliminación de la astringencia en maduración V

Cuando estos caquis no astringentes tratados con APH (NA, V) (Tabla 7) se comparan con los correspondientes caquis astringentes (A, V) (Tabla 6), para todos los tratamientos de APH se observa que en ambos casos la FT presenta valores similares. En relación a la FI, sólo para caquis tratados con 200 MPa/6 min y 400 MPa/3 min los niveles de FI no muestran cambios significativos entre caquis astringentes y no astringentes (A/NA, V); para el resto de tratamientos de APH los frutos no astringentes (NA, V) son los que contienen niveles de FI significativamente mayores. Por el contrario, la tendencia encontrada en la FS pone de manifiesto diferencias significativas entre todas las muestras astringentes y no astringentes (A/NA, V), siendo

los frutos astringentes los que exhiben los valores de FS significativamente más altos. Estos resultados revelan que los comportamientos de la FS y la relación FS:FI se corresponden con las tendencias observadas entre los caquis control astringente y no astringente de maduración V (A/NA-C, V) (Tabla 3).

Efecto maduración en caquis no astringentes

Cuando los caquis de maduración V tratados con APH (NA, V) (Tabla 7) se comparan con los caquis de maduración III (NA, III) (Tabla 5), los resultados muestran contenidos significativamente más bajos de FT en los frutos de maduración V tratados con 200 MPa/1 min y 400 MPa. Estos valores de FT son consecuencia de contenidos de FI significativamente menores en los caquis de maduración V. Por otra parte, en lo que respecta a la FS, se observa que sólo con tratamientos de 1 min se logra la misma tendencia encontrada entre muestras control (NA-C, III/V), donde los caquis de maduración V son los que contienen niveles de FS significativamente más bajos, tal y como ha quedado reflejado en la Tabla 3.

En resumen, al aplicar APH a caquis no astringentes de maduración V se observan, en comparación con el control (NA-C, V), niveles similares de FT para todos los tratamientos y, en general, también valores similares de FI, con descensos de los contenidos de FS sólo en la mitad de las muestras. Estos resultados conllevan variaciones en la contribución de cada fracción de fibra a la FT; la aplicación de APH provoca redistribución de FS a FI, principalmente al aplicar 400 MPa/1 y 6 min. La comparación de caquis de maduración V y distinta astringencia (A/NA, V) revela que: (a) los niveles de FT entre muestras de igual tratamiento de APH son similares, (b) en general, el contenido de FI es mayor en los caquis no astringentes, y (c) los frutos astringentes son los que presentan los valores más altos de FS. Finalmente, al comparar caquis no astringentes de distinta maduración (NA, III/V), se observan, en general, niveles más bajos de FT y FI en los frutos de maduración V, mientras que los resultados de FS no son concluyentes.

Cuando los resultados de FA se expresan en **materia fresca** (mg/g mf) (Tabla A.12 del Anexo) se encuentran algunos cambios en los resultados estadísticos, que conllevan variaciones de los comentarios realizados sobre los caquis no astringentes de maduración V. Las diferencias más destacables consisten en que, por un lado, al comparar los resultados de muestras tratadas con APH frente al control (NA-C, V), la FI de los caquis se incrementa al aplicar 200 MPa/1 min y 400 MPa/1-6 min, y la FS se reduce con los tratamientos 400 MPa/1 y 6 min. Por otro lado, el estudio del efecto de

la maduración revela contenidos de FT más bajos en caquis de maduración V sólo cuando estos frutos se someten a 200 MPa/1 min y 400 MPa/3 min, consecuencia de reducciones de FS y FI, respectivamente.

- **Análisis multivariante de fibra alimentaria (materia seca)**

Debido al elevado número de muestras analizadas, que difieren entre sí en estado de maduración (III, V), astringencia (A, NA) y tratamientos de altas presiones hidrostáticas, se llevó a cabo un análisis multivariante para conocer las posibles relaciones que podrían establecerse entre ellas.

Fibra total (FT)

En relación al contenido de FT, el conjunto de las 28 muestras objeto de estudio puede clasificarse en dos conglomerados (grupos 1 y 2), formados por 14 muestras cada uno y con valores de FT de 209 y 180 mg/g ms, respectivamente (Figura 32).

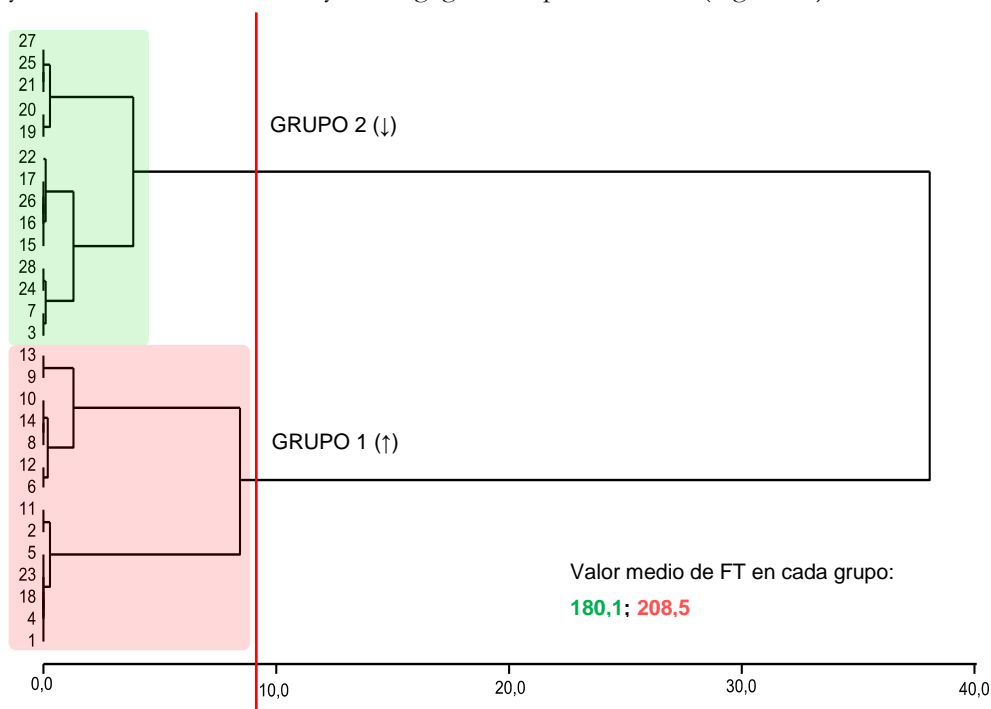


Figura 32. Dendrograma para fibra total en materia seca. Dos conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

En el grupo 1 (valor alto de FT) se encuentran mayoritariamente los caquis menos maduros (III), junto con muestras de maduración V, astringentes (200 MPa/6 min) y no astringentes (200 MPa/1 min). Por el contrario, en el grupo 2 (valor bajo de FT) se agrupan casi todas las muestras de maduración V y dos muestras astringentes de maduración III (200 MPa/3 min y 400 MPa/6 min).

Fibra insoluble (FI)

Como se ha constatado en los primeros cuatro bloques de este apartado de Fibra Alimentaria, la FA del caqui está constituida mayoritariamente por FI. Por el análisis multivariante, el conjunto de las 28 muestras se clasifica en dos conglomerados (grupos 1 y 2), constituidos por 13 y 15 muestras, y con valores de FI de 175 y 142 mg/g ms, respectivamente (Figura 33).

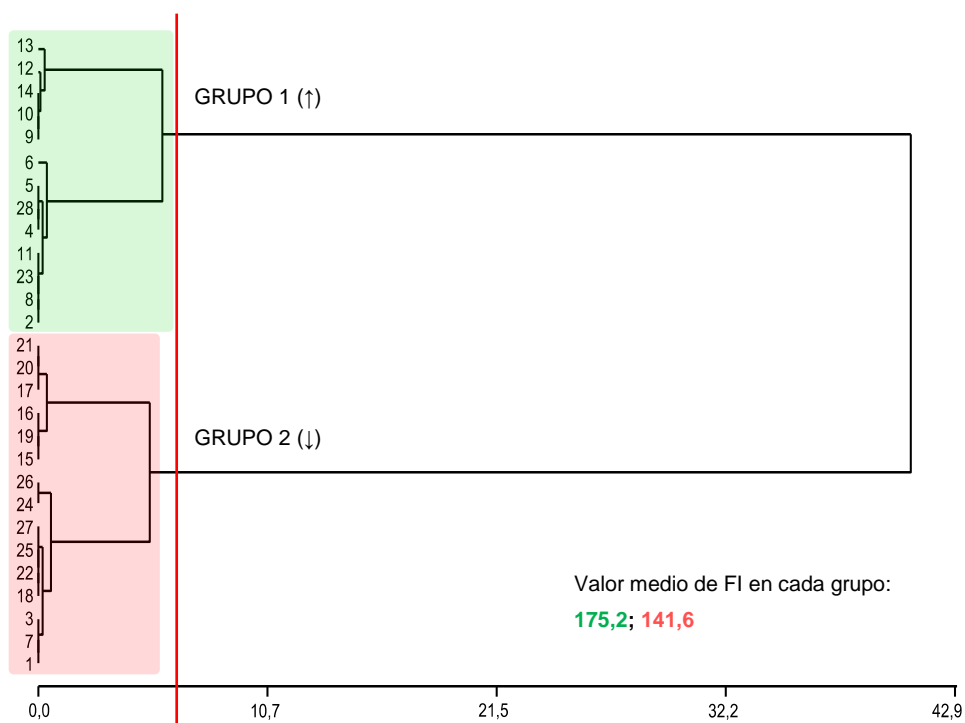


Figura 33. Dendrograma para fibra insoluble en materia seca. Dos conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

El grupo 1 (valor alto de FI) está formado mayoritariamente por frutos de maduración III (11 muestras), teniendo mayor presencia de caquis no astringentes (7 muestras), mientras que el grupo 2 (valor bajo de FI) agrupa principalmente a muestras de maduración V (12 muestras), la mayoría de ellas astringentes (6 muestras).

Por lo tanto, comparando los dendrogramas obtenidos para FT y FI se advierte que, en general, las muestras menos maduras (III) forman parte, en cada caso, de los conglomerados con contenidos elevados de FT y FI.

Fibra soluble (FS)

En relación al análisis multivariante de los resultados de FS, se obtiene un dendrograma con dos conglomerados (grupos 1 y 2), de 12 y 16 muestras, y cuyos valores de FS son 45 y 31 mg/g ms, respectivamente (Figura 34).

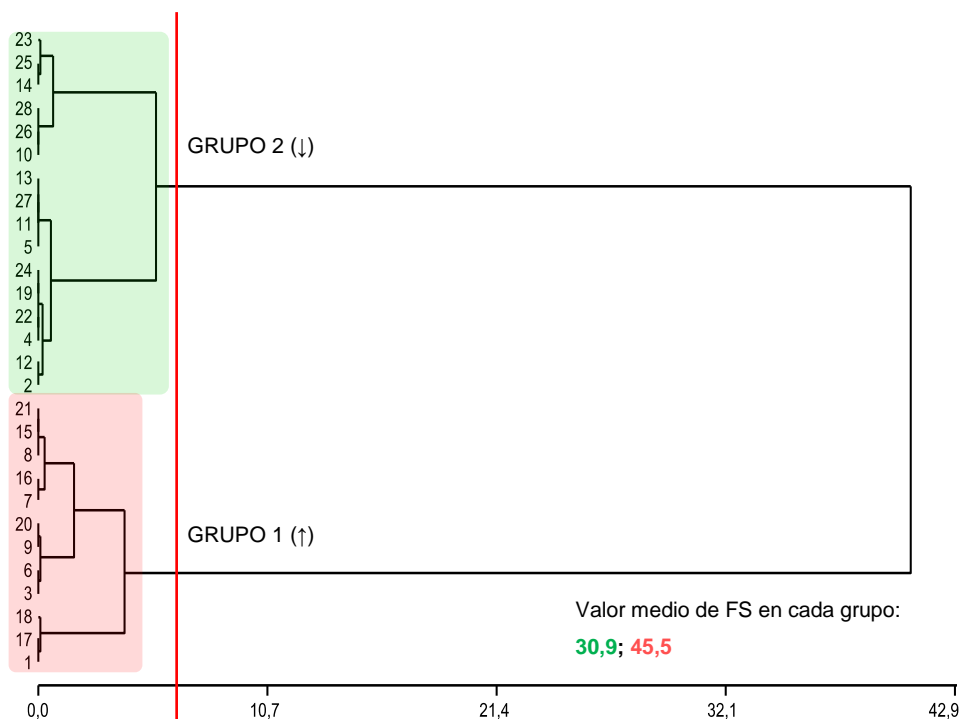


Figura 34. Dendrograma para fibra soluble en materia seca. Dos conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

En el grupo 1 (valor alto de FS) predominan los caquis astringentes, tanto de estado de maduración III como V. Además, se encuentran algunos caquis no astringentes de maduración III (control y 200 MPa/1 min). Por otra parte, en el grupo 2 (valor bajo de FS) predominan los caquis no astringentes, con igual número de muestras de cada uno de los estados de maduración (III, V).

Análisis multivariante conjunto

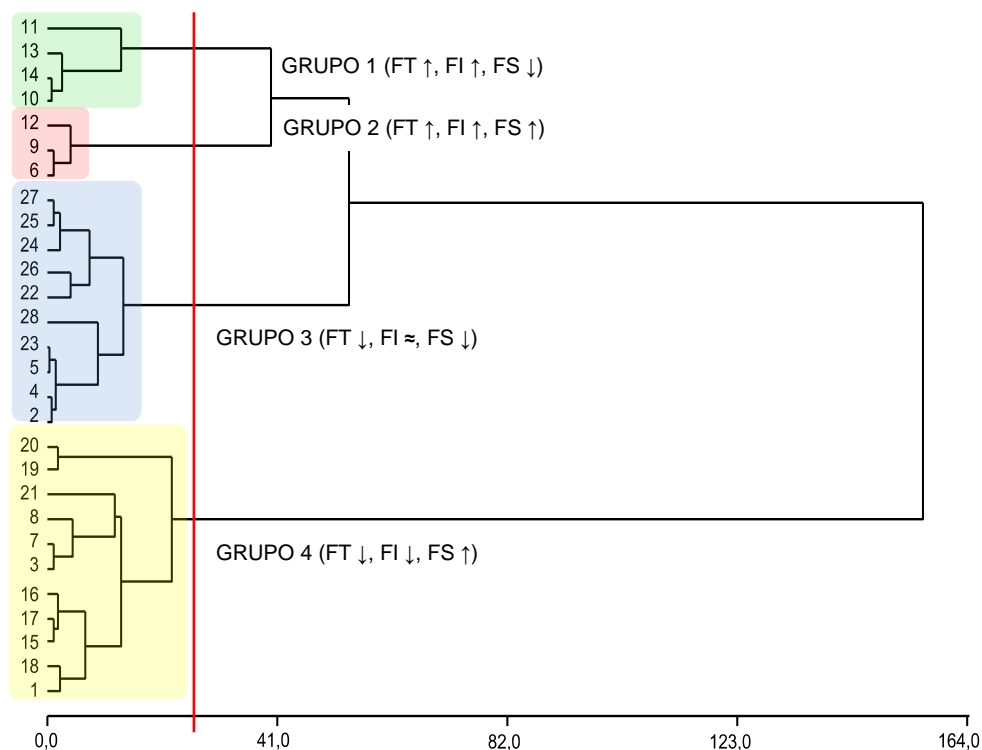
Para concluir el análisis estadístico llevado a cabo en las 28 muestras objeto de estudio, se hace necesario realizar un análisis multivariante que permita tener una visión global del comportamiento de todas las variables comentadas (FT, FI, FS, RGI, RGS y proteína). Así, se consigue un dendrograma de cuatro conglomerados (grupos 1, 2, 3 y 4) con 4, 4, 9 y 11 muestras, respectivamente (Figura 35).

En los grupos 1 y 2 se encuentran todas las muestras no astringentes de maduración III (NA, III). Concretamente, el **grupo 1** presenta **valores altos de FT, FI, RGI y proteína**, pero **contenidos bajos de FS y RGS** y está constituido por cuatro muestras **no astringentes de maduración III (NA, III) con tratamientos 200-400 MPa/3 y 6 min**. El **grupo 2** muestra valores relativamente **altos de FT, FI, FS, RGI y RGS**, junto con **niveles bajos de proteína**, en el que se clasifican el **control (NA-C, III)** y los **tratamientos 200-400 MPa/1 min (NA)**.

El **grupo 3** se caracteriza por **contenidos bajos de FT**, si bien ahora la **FI, RGI y proteína tienen valores medios**, y los niveles de **FS y RGS son bajos**, en el que predominan caquis **no astringentes de maduración V (NA, V)**, encontrando en este conglomerado **todos los tratamientos de APH aplicados** a dicho tipo de muestra (NA, V).

El conglomerado restante (**grupo 4**) es el mayoritario, y agrupa muestras con **valores relativamente bajos de FT, FI, RGI y proteína**, y **contenidos altos de FS y RGS**, que corresponden principalmente a muestras **astringentes de maduración V (control y todos los tratamientos de APH)**.

En definitiva, los valores más altos de FT y FI están en los caquis no astringentes de maduración III, frutos en los que el contenido de FS depende del tratamiento de APH aplicado. Por el contrario, los valores más bajos de FT y FI se encuentran en los caquis de maduración V, principalmente en frutos astringentes. Para este estado de maduración el nivel de FS depende del grado de astringencia.



Valor medio de las variables en cada grupo

Grupo	RGI	ProteínaRGI	FI	RGS	ProteínaRGS	FS	FT
1	227	43	184	44	15	29	213
2	202	24	178	53	12	41	219
3	190	32	159	45	14	30	189
4	161	22	139	58	14	44	183

Figura 35. Dendrograma de fibra conjunto en materia seca. Cuatro conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado. Estandarización: puntuaciones Z. Según K-medias la muestra 8 está en el grupo 2, y la muestra 22 está en el grupo 4. La tabla “Valor medio de las variables en cada grupo” recoge estas modificaciones.

- **Análisis multivariante de fibra alimentaria (materia fresca)**

Con el fin de conseguir mayor información de los resultados obtenidos en esta investigación, también se hace necesario expresar los resultados en materia fresca (mf) y compararlos con los conseguidos en materia seca (ms), para detectar posibles diferencias en el comportamiento.

Fibra total (FT)

A diferencia de lo observado en materia seca, el análisis multivariante (dendrograma) de FT en materia fresca muestra que los grupos 1' y 2' vienen determinados no sólo por la maduración, como ocurría en materia seca, sino también por el factor astringencia. Así, los grupos 1' (valor alto de FT) y 2' (valor bajo de FT) se encuentran constituidos principalmente por caquis no astringentes y astringentes, respectivamente (Figura A.2 del Anexo).

Fibra insoluble (FI)

Al expresar los resultados de FI en materia fresca en el dendrograma se detecta que, en lugar de los dos conglomerados obtenidos en materia seca, se establecen tres grupos (1', 2' y 3'), con 8, 11 y 9 muestras, respectivamente (Figura A.3 del Anexo).

En el grupo 1' (valor alto de FI) predominan, al igual que en materia seca (que corresponde al grupo 1), muestras no astringentes, aunque éstas son tanto de maduración III como de V. Por otro lado, en el nuevo conglomerado intermedio (grupo 2') se clasifican mayoritariamente muestras de maduración III, tanto astringentes (A, III) como no astringentes (NA, III), mientras que el grupo 3' (valor bajo de FI), a pesar de englobar principalmente a caquis astringentes y a las muestras más maduras (V), como en materia seca (grupo 2), deja de agrupar algunas muestras de maduración V, tanto astringentes como no astringentes.

Fibra soluble (FS)

Al expresar los resultados de FS en materia fresca se constatan ciertas diferencias. En primer lugar, el dendrograma en vez de tener dos conglomerados (ms) está formado por tres grupos como en FI (1', 2' y 3'), constituidos por 6, 8 y 14 muestras, respectivamente (Figura A.4 del Anexo).

En el grupo 1' (valor alto de FS) predominan los caquis astringentes y, en general, las muestras de maduración V, mientras el grupo 2' (valor intermedio de FS) contiene mayoritariamente a caquis astringentes y, en relación a la maduración, a las muestras menos maduras (III). Por otro lado, el grupo 3' (valor bajo de FS) engloba principalmente caquis no astringentes.

Análisis multivariante conjunto

Finalmente, del análisis multivariante conjunto realizado a partir de resultados expresados en materia fresca se obtiene una clasificación (Figura A.5 del Anexo) similar a la de materia seca, en la que las muestras continúan agrupándose en cuatro conglomerados (grupos 1', 2' 3' y 4') y, en general, se llegan a establecer conclusiones similares a las obtenidas en materia seca.

- **Conclusiones parciales**

Al aplicar APH a caquis de maduración III se obtienen, respecto al control (A/NA-C, III), niveles similares de fibra total y fibra insoluble, pero contenidos más bajos de fibra soluble. Estos resultados se reflejan en una redistribución de fibra soluble a fibra insoluble, que alcanza su máxima variación a diferentes condiciones de APH; 400 MPa/1 min (A, III) y 200 MPa/3 min (NA, III). La aplicación de APH a caquis de maduración V proporciona contenidos similares de fibra total y fibra insoluble respecto al caqui control (A/NA-C, V). Los valores de fibra soluble no muestran diferencias, excepto en caquis sometidos a 400 MPa donde, en general, esta fracción de FA disminuye.

Por otra parte, el estudio del factor astringencia (A/NA) en caquis de maduración III y V revela, en general, contenidos similares de fibra total, con cambios en las fracciones de fibra, más favorecidos para el grado de maduración V. El contenido de fibra insoluble tiende a ser mayor en los caquis no astringentes, mientras que los caquis astringentes son los que presentan los valores más altos de fibra soluble. Por lo tanto, el grado de astringencia junto con el tratamiento de APH condicionan los contenidos de fibra de los caquis.

El grado de maduración (III, V) de los caquis en relación a la aplicación de APH pone de manifiesto que, en caquis astringentes, la mayoría de los tratamientos proporcionan contenidos similares de fibra total, con independencia del grado de maduración que tengan los frutos. Sin embargo, se destaca que los mayores niveles de fibra insoluble se encuentran en los caquis menos maduros (III), mientras que los niveles de fibra soluble son similares, tanto en caquis de maduración III como V cuando se aplican 400 MPa. En caquis no astringentes el estado de maduración de los frutos también condiciona el impacto de las APH sobre los contenidos de fibra alimentaria, siendo los frutos más maduros (V) los que, en general, exhiben los niveles más bajos tanto de fibra total

como de fibra insoluble. En cambio, los resultados de fibra soluble no conducen a conclusiones relevantes.

2. RESIDUO INSOLUBLE EN ALCOHOL

El material de las paredes celulares vegetales se aísla realizando extracciones etanólicas, no siendo necesario llevar a cabo tratamiento enzimático con las enzimas amilasa, amiloglucosidasa y proteasa, ya que el contenido de almidón y proteínas en frutas y hortalizas es bajo (Hui, 2006). Por lo tanto, el Residuo Insoluble en Alcohol (RIA) de la pulpa de los caquis se obtuvo, para todas las muestras estudiadas, mediante una extracción etanólica, tal y como se describe en los Materiales y Métodos.

Los comentarios relativos a los rendimientos de RIA de los caquis se estructuran, al igual que en el apartado anterior (1. Fibra Alimentaria), en cuatro bloques (A, III; NA, III; A, V; NA, V). En cada bloque primero se establece el rendimiento de la muestra control, después se comparan las muestras tratadas con APH frente al control, y si se considera relevante, también se destacan las diferencias observadas al fijar la presión y cambiar la duración del tratamiento. Por otro lado, el efecto de eliminación de la astringencia mediante el tratamiento con CO₂ se trata en los bloques de caquis no astringentes (NA, III; NA, V), mientras que el efecto de la maduración se muestra en los bloques de maduración V (A, V; NA, V).

• Caquis astringentes de maduración III (A, III)

En la Figura 36a (Tabla A.13 del Anexo) se observa que el rendimiento de RIA en el caqui astringente **control** de maduración III (A-C, III) alcanza el 25% (246 mg/g ms), nivel similar al que presentan fresas (Fügel y col., 2004; Holzwarth y col., 2012) y calabacines (Carvajal y col., 2015), pero menor que el nivel de RIA que muestran zanahorias, naranjas y calabazas (Ng y col., 1998; Garau y col., 2007; Kurz y col., 2008). Por el contrario, el contenido de RIA constatado en el caqui (A-C, III) es entre 2 y 4 veces mayor que el que muestran otras frutas como cerezas, manzanas, albaricoques, melocotones, kiwis, ciruelas y mangos, tal y como se pone de manifiesto en la bibliografía (Fügel y col., 2004; Kurz y col., 2008; Femenia y col., 2009; Renard y Ginies, 2009; Elizondo-Montemayor y col., 2015).

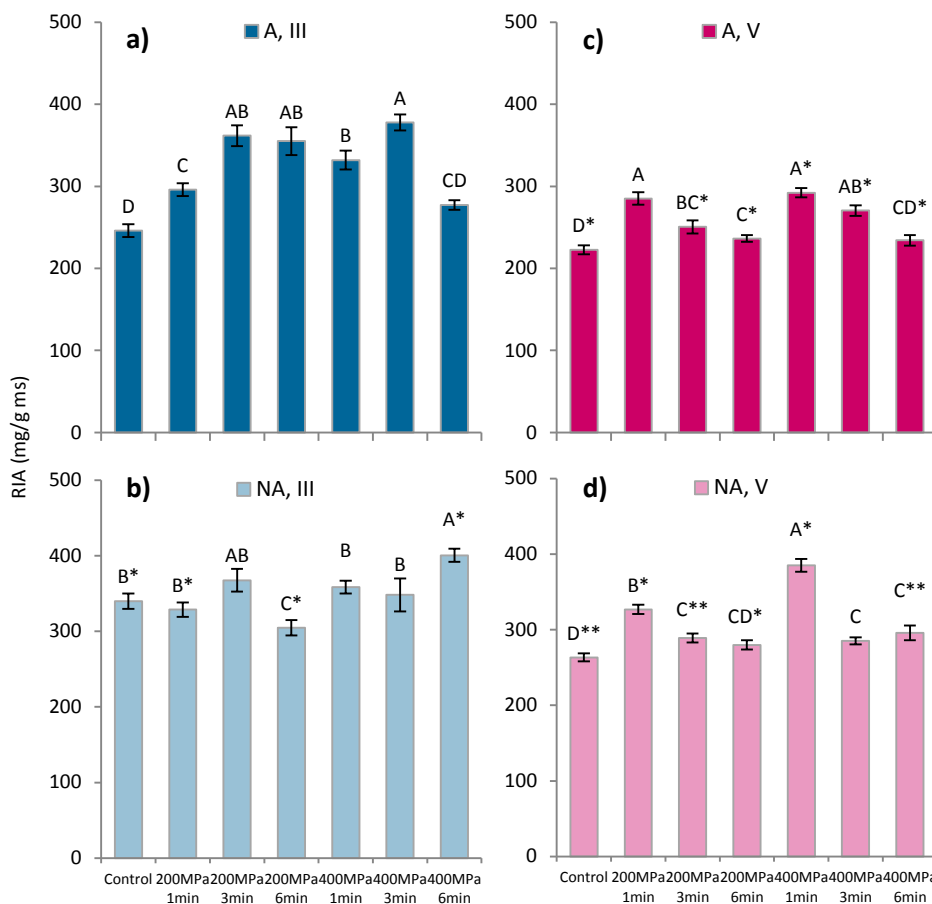


Figura 36. Contenido de RIA en caquis: (a) astringentes de maduración III, (b) no astringentes de maduración III, (c) astringentes de maduración V y (d) no astringentes de maduración V.

a), b), c) y d): Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III ó V) y astringencia (A ó NA); mayúscula.

b) y d): Efecto eliminación de la astringencia: diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V) y tratamiento de APH; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

c) y d): Efecto maduración: diferencias entre III y V, para igual astringencia (A ó NA) y tratamiento de APH; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

En relación al resultado de RIA hallado en el control (A-C, III) hay que indicar que, según los estudios encontrados en la bibliografía (Vázquez-Gutiérrez y col., 2011), en el caqui astringente control de maduración III (A-C, III) la pared celular no parece estar degradada y todo el material soluble se encuentra en el interior de la célula. Esto justifica que las proantocianidinas solubles establezcan interacciones débiles con la pared celular (Hanlin y col., 2010), las cuales desaparecen al realizar la extracción etanólica, tal y como han puesto de manifiesto Le Bourvellec y col. (2004). Así, el RIA del caqui control (A-C, III) estará constituido mayoritariamente por polisacáridos, tal como se detallará más adelante (apartado 3 de este Capítulo).

Por otra parte, atendiendo al efecto que ejercen las **altas presiones hidrostáticas** sobre el nivel de RIA, cabe señalar que hasta la fecha son escasos los estudios llevados a cabo en frutas (Elizondo-Montemayor y col., 2015). Tal y como se pone de manifiesto en la Figura 36a (Tabla A.13 del Anexo), en los caquis tratados con APH el rendimiento de RIA aumenta significativamente, entre el 20-54% respecto al control (A-C, III) (333 mg/g ms, valor medio), obteniendo los rendimientos más elevados cuando la duración del tratamiento es de 3 min (370 mg/g ms, valor medio). Esta tendencia es distinta a la observada en el estudio realizado en mangos por Elizondo-Montemayor y col. (2015), donde se muestra que la aplicación de APH (592 MPa/3 min/25°C) no provoca cambios significativos en el contenido de RIA.

Los incrementos de RIA constatados al aplicar APH a los caquis astringentes (A, III) podrían ser debidos a que, con los tratamientos de APH, la pared celular se degrada y parte del material soluble, que se encontraba dentro de la célula, se difunde hacia los espacios intercelulares; esta evidencia ha sido observada por Vázquez-Gutiérrez y col. (2011, 2012b) en estudios de microestructura realizados sobre las mismas muestras. Esta difusión de material intracelular permitiría que las proantocianidinas solubles se insolubilizaran al establecer fuertes interacciones con la pared celular; probablemente en el exterior de la célula las uniones tanino-pared celular son fuertes porque estos compuestos fenólicos muestran una elevada afinidad por los polisacáridos (pécticos) que constituyen la lámina media (Renard y col., 2001), mientras que en el interior de la célula las intensas uniones tanino-pared celular podrían deberse al aumento del grado de polimerización de los taninos (Le Bourvellec y col., 2004).

En resumen, al aplicar APH a caquis astringentes de maduración III se logran mayores contenidos de RIA en las muestras tratadas con APH que en el control (A-C, III)

siendo, con independencia de la presión, el tiempo de 3 min el que genera los rendimientos más altos.

- **Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)**

En el caqui no astringente **control** de maduración III (NA-C, III) (Figura 36b y Tabla A.14 del Anexo) el rendimiento de RIA es del 34% (340 mg/g ms), lo que supone un incremento significativo del 38% respecto al contenido detectado en el caqui astringente de maduración III (A-C, III) (246 mg/g ms). Por lo tanto, el contenido de RIA del caqui no astringente (NA-C, III) es notablemente mayor que el que presentan muchas frutas (Fügel y col., 2004; Kurz y col., 2008; Femenia y col., 2009; Renard y Ginies, 2009; Elizondo-Montemayor y col., 2015).

Atendiendo a este rendimiento de RIA, hay que señalar que en el interior de las células tánicas de los caquis no astringentes control de maduración III (NA-C, III) se observa material insoluble, tal y como se recoge en la bibliografía (Salvador y col., 2007; Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b), consecuencia de la reacción producida entre las proantocianidinas solubles y el acetaldehído generado tras realizar el tratamiento con CO₂ (Matsuo y col., 1991). De este modo, se pueden producir fuertes interacciones tanino-pared celular (Hanlin y col., 2010) que permanecerán en el RIA permitiendo obtener un rendimiento significativamente mayor en el caqui no astringente (NA-C, III) en comparación con el caqui astringente (A-C, III).

En relación al efecto de las **altas presiones hidrostáticas**, en la Figura 36b (Tabla A.14 del Anexo) se observa que, en general, el contenido de RIA de los caquis no astringentes tratados con APH (NA, III) (351 mg/g ms, valor medio) es similar al valor encontrado en el control (NA-C, III) (340 mg/g ms), tendencia equivalente a la detectada en mango por otros autores (Elizondo-Montemayor y col., 2015). Los resultados obtenidos en los caquis sometidos a APH (NA, III) son parecidos a los valores constatados en el control (NA-C, III) probablemente porque la mayoría de las proantocianidinas solubles ya habían precipitado en el interior de la célula antes de aplicar los tratamientos de APH (Vázquez-Gutiérrez y col., 2011).

Por otro lado, en relación a la eliminación de la astringencia previa al tratamiento de APH (**efecto eliminación de la astringencia en maduración III**), se detecta que con los tratamientos 200 MPa/1 min y 400 MPa/6 min los niveles de RIA son superiores en los caquis no astringentes; en cambio, al aplicar 200 MPa/3 min y 400 MPa/1-3 min los contenidos de RIA son similares en ambas muestras (A/NA, III), y

con 200 MPa/6 min el rendimiento de RIA es significativamente menor en el caqui no astringente (NA, III). Los resultados ponen de manifiesto su dependencia del grado de astringencia. En este sentido, Vázquez-Gutiérrez y col. (2012b) señalan que en las muestras astringentes (A, III) los taninos se insolubilizarían tanto dentro como fuera de la célula, mientras que en las muestras no astringentes (NA, III) los taninos insolubles sólo se encontrarían dentro de la célula.

En definitiva, al aplicar APH a caquis no astringentes de maduración III se consiguen rendimientos de RIA parecidos al contenido de RIA del control (NA-C, III), debido principalmente a que la precipitación de taninos se produce durante el tratamiento con CO₂, antes de aplicar las APH. Por otra parte, al comparar caquis de maduración III y distinta astringencia (A, NA) se genera un incremento en el contenido de RIA de las muestras no astringentes sólo en el caqui control (NA-C, III) o cuando se aplican combinaciones presión/tiempo bajas o altas, probablemente porque los taninos que precipitan en el interior de la célula establecen una intensa asociación tanino-pared celular, favoreciendo su permanencia en el RIA.

- **Caquis astringentes de maduración V (A, V)**

En el caqui astringente **control** de maduración V (A-C, V) (Figura 36c y Tabla A.15 del Anexo) el rendimiento del RIA es del 22% (223 mg/g ms), lo que supone un descenso significativo del 10% en comparación con el contenido de RIA detectado en el caqui de maduración III (A-C, III) (246 mg/g ms), y corrobora los datos que suelen observarse en la mayoría de las frutas (Brummell, 2006; Femenia y col., 2009; Figueroa y col., 2010). No obstante, se debe tener en cuenta que en algunos vegetales el contenido de RIA sigue una tendencia contraria a la constatada en el caqui, ya que su nivel se incrementa con el avance de la maduración, lo que podría atribuirse a la síntesis de pectinas y/o a la lignificación (Hyodo y col., 2013; Zaro y col., 2014).

Respecto a este contenido de RIA de la muestra control, se debe indicar que en el caqui astringente control de maduración V (A-C, V) las paredes celulares están degradadas (Vázquez-Gutiérrez, 2012a), como consecuencia de las modificaciones originadas por enzimas presentes en la pared celular (Goulao y Oliveira, 2008). Esta degradación provoca descenso del contenido de azúcares que constituyen los polisacáridos de la pared celular, así como reducción del número de puntos de unión tanino-pared celular, tal como se muestra en la literatura (Hanlin y col., 2010). Por lo tanto, el menor contenido de RIA obtenido en los caquis de maduración V (A, V) en

comparación con los caquis de maduración III (A, III), puede ser consecuencia de que con la maduración existe pérdida de polisacáridos y reducción de la presencia de compuestos fenólicos en el RIA, como se pondrá de manifiesto en la descripción de la composición del RIA (apartado 3 de este Capítulo).

En relación a la comparación entre los caquis tratados con **altas presiones hidrostáticas** (A, V) y el caqui control (A-C, V) se observan (Figura 36c y Tabla A.15 del Anexo), al igual que en los caquis de maduración III (A, III), aumentos significativos de entre el 6-31% en los rendimientos de RIA (261 mg/g ms, valor medio), alcanzando los mayores valores al aplicar 200 y 400 MPa durante 1 min (285 y 292 mg/g ms, respectivamente). Esta tendencia es distinta a la constatada en mangos (Elizondo-Montemayor y col., 2015).

Los resultados son significativamente más altos en los caquis tratados con APH, porque se establecen fuertes interacciones tanino-pared celular, similares a las observadas en maduración III, como han puesto de manifiesto Vázquez-Gutiérrez y col. (2011, 2012a, 2012b) en los estudios de microestructura que completan este trabajo de investigación. Sin embargo, cabe señalar que estos incrementos no son tan altos como los observados en los frutos menos maduros (A, III), consecuencia del deterioro que el proceso de maduración origina en la pared celular de los caquis.

En relación a la influencia de la maduración de caquis astringentes tratados con APH (A, III/V) (**efecto maduración en caquis astringentes**), en general, se pone de manifiesto que los rendimientos de RIA son significativamente menores en los caquis de maduración V (A, V).

Por lo tanto, al tratar con APH caquis astringentes de maduración V el rendimiento de RIA es significativamente mayor (261 mg/g ms, valor medio) que en el control (A-C, V) (223 mg/g ms), alcanzando los rendimientos más altos a 1 min, con independencia de la presión aplicada. Además, al comparar caquis astringentes de distinta maduración (A, III/V), se observa que el contenido del RIA es menor en los frutos más maduros, probablemente porque los polisacáridos de la pared celular se degradan.

- **Caquis no astringentes de maduración V (NA, V)**

Finalmente, en el caqui no astringente **control** de maduración V (NA-C, V) (Figura 36d y Tabla A.16 del Anexo) se cuantifica un rendimiento de RIA de 263 mg/g ms, de manera que la eliminación de la astringencia conlleva un aumento significativo (18%)

del contenido de RIA respecto al caqui astringente (A-C, V) (223 mg/g ms). Por el contrario, la maduración supone un descenso significativo (23%) respecto al contenido de RIA cuantificado en el caqui de maduración III (NA-C, III) (340 mg/g ms), tendencia similar a la que presentan otras frutas (Brummell, 2006; Femenia y col., 2009; Figueroa y col., 2010).

A la vista del rendimiento de RIA de la muestra control (NA-C, V), las diferencias encontradas entre caquis de distinta astringencia (A/NA-C, V) podrían deberse a que, al eliminar la astringencia las proantocianidinas solubles precipitan y establecen intensas asociaciones con la pared celular, consiguiendo así permanecer en el RIA. Esto es similar a lo observado en maduración III (A/NA-C, III), con la diferencia de que, en la muestra no astringente de maduración V (NA-C, V), los taninos insolubles se constatan tanto en las células tánicas como en los espacios intercelulares, tal como se indica en la literatura (Salvador y col., 2007; Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b), consecuencia de que durante la maduración, los espacios intercelulares se van llenando de material soluble, procedente tanto del interior de la célula como de la pared celular (Salvador y col., 2007). Por otra parte, atendiendo a la comparación de caquis de distinta maduración (NA-C, III/V), la disminución observada en el rendimiento de RIA podría relacionarse con importantes modificaciones que ocurren en la pared celular durante la maduración (Goulao y Oliveira, 2008).

En relación a la aplicación de **altas presiones hidrostáticas** se detectan (Figura 36d y Tabla A.16 del Anexo) incrementos significativos de entre el 8-46% en los rendimientos de RIA (310 mg/g ms, valor medio) respecto al control (NA-C, V), tendencia no observada en el caqui de maduración III (NA, III), y que alcanza los niveles más altos a 200 y 400 MPa/1 min (327 y 385 mg/g ms, respectivamente). En relación a estos cambios observados entre el caqui control (NA-C, V) y los caquis tratados con APH (NA, V), es interesante tener en cuenta que cuando el grado de maduración es alto (V), la difusión del CO₂ parece estar limitada (Salvador y col., 2008). Esto implica que la producción de acetaldehído será menor en los frutos más maduros (V), lo que conlleva menor insolubilización de taninos condensados. Así, la aplicación de APH conseguiría insolubilizar los taninos que continúan siendo solubles tras el tratamiento de CO₂, logrando un efecto similar al descrito en los caquis astringentes (A, III/V); es decir, difusión e insolubilización de taninos que quedaría reflejada en mayor rendimiento de RIA.

Cuando estas muestras no astringentes tratadas con APH (NA, V) se comparan con las correspondientes muestras astringentes (A, V) **(efecto eliminación de la astringencia en maduración V)** se observa, para la mayoría de los tratamientos de APH, que los contenidos de RIA significativamente más altos se encuentran en las muestras no astringentes (NA, V). Por otra parte, en relación al grado de maduración de los caquis tratados con APH (NA, III/V) **(efecto maduración en caquis no astringentes)**, sólo se constatan disminuciones significativas en los rendimientos de RIA en muestras de maduración V con tratamientos de 200 MPa/3 min (21%) y 400 MPa/6 min (26%).

Por lo tanto, al aplicar APH a caquis no astringentes de maduración V se obtienen mayores incrementos de RIA, encontrando para el tiempo de 1 min los valores más altos. La comparación de caquis de maduración V y distinta astringencia (A, NA) muestra incrementos de RIA en los caquis no astringentes (NA, V), mientras que el estado de maduración no parece ser un factor decisivo en el rendimiento de RIA, ya que sólo en el control (NA-C, V) y en algunas muestras tratadas con APH (NA, V) el rendimiento de RIA disminuye con la maduración.

Análisis multivariante

En relación al contenido de RIA, el conjunto de las 28 muestras objeto de estudio puede clasificarse en tres conglomerados (grupos 1, 2 y 3), formados por 12, 11 y 5 muestras cada uno y con valores de RIA de 357, 285 y 238 mg/g ms, respectivamente (Figura 37).

El grupo 1 (valor alto de RIA) contiene mayoritariamente caquis de maduración III, principalmente frutos no astringentes, si bien en este conglomerado también se agrupan algunas de las muestras astringentes tratadas con APH. Por el contrario, en los dos grupos restantes predominan los caquis de maduración V. En concreto, en el grupo 2 (valor intermedio de RIA) se encuentra mayor número de muestras no astringentes, mientras que el grupo 3 (valor bajo de RIA) se caracteriza por agrupar caquis astringentes, destacando en este caso la presencia de los controles (A-C, III/V).

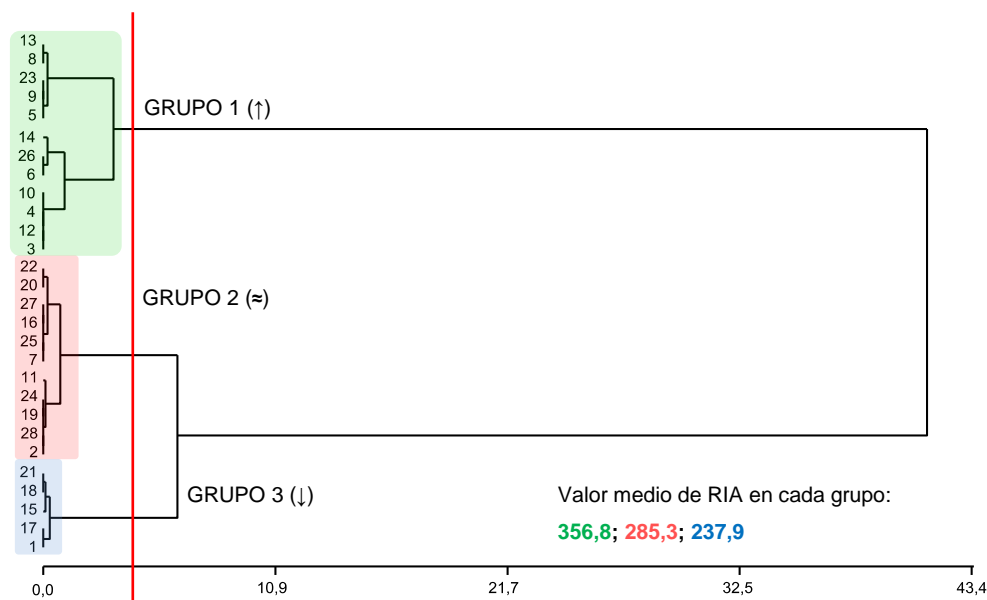


Figura 37. Dendrograma para RIA en materia seca. Tres conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

• Conclusiones parciales

Los resultados obtenidos en los cuatro bloques de muestras ponen de manifiesto que los tratamientos de APH incrementan el rendimiento de RIA en los caquis astringentes, con independencia del grado de maduración (A, III/V), así como en los caquis no astringentes más maduros (NA, V). En relación a esto se observa que, al aumentar el grado de maduración, los máximos rendimientos de RIA se alcanzan a tiempos cada vez más cortos.

La eliminación de la astringencia también incrementa los valores de RIA, tanto en maduración III como V, mientras que la maduración reduce el rendimiento de RIA, independientemente de la astringencia (A, NA). La influencia de las APH sobre los rendimientos de RIA está condicionada tanto por el grado de astringencia como por el grado de maduración.

Por otra parte, indicar que los resultados expresados en **materia fresca** conducen a comportamientos similares a los observados en materia seca (Tablas de A.13 a A.16 del Anexo).

3. COMPOSICIÓN DEL RESIDUO INSOLUBLE EN ALCOHOL

Composición del RIA de Caquis sin Tratamiento de APH

Este bloque se divide en cuatro secciones de muestras (A, III; NA, III; A, V; NA, V) en las que los resultados se comentan atendiendo a la siguiente pauta. Primero se establece el contenido total de azúcares (AU + AN), a continuación, se comparan entre sí los resultados obtenidos en las hidrólisis fuerte (HF) y suave (HS), lo que aportará una visión de las posibles interacciones que se establecen entre los polisacáridos de la pared celular. Posteriormente, se muestran los contenidos de los azúcares mayoritarios (AU y glucosa), así como la contribución (%) de cada uno de los azúcares al total (AU + AN). Finalmente, se discuten las modificaciones que sufre el contenido de lignina Klason. Se debe tener en cuenta que en las secciones de caquis no astringentes (NA, III; NA, V) también se muestra el efecto de la eliminación de la astringencia, mientras que en las secciones de maduración V (A, V; NA, V) se discute el efecto de la maduración.

- **Caqui astringente control de maduración III**

En el caqui astringente control de maduración III (A-C, III) el contenido **total de azúcares** que constituyen el RIA (azúcares neutros + azúcares ácidos) alcanza 598 mg/g RIA (Tabla 8), lo que pone de manifiesto que el RIA está constituido mayoritariamente por carbohidratos. En comparación con los estudios llevados a cabo por otros autores en diferentes frutas, este contenido de azúcares es un 40% más elevado que en manzanas (Colin-Henrion y col., 2009), un 46% mayor que en naranjas (Garau y col., 2007) y entre 18-49% mayor que el constatado en kiwis por Femenia y col. (2009). Por el contrario, el contenido total de los azúcares que constituyen el RIA del caqui astringente de maduración III es menor que en ciruelas (Nunes y col., 2008; Renard y Ginies, 2009).

En la Tabla 8 se observa que, realizando una comparación detallada entre los resultados obtenidos al llevar a cabo las **hidrólisis fuerte (HF) y suave (HS)** al RIA, los contenidos de AU son similares en ambas hidrólisis, y que los cambios significativos se encuentran en glucosa, arabinosa, xilosa y manosa. Los niveles similares de AU (318 mg/g RIA, valor medio) indican que estos compuestos, que proceden de polisacáridos pécticos presentes principalmente en la lámina media y en la pared primaria (Carpita y McCann, 2000), se hidrolizan mayoritariamente en

condiciones ácidas suaves (HS). No obstante, parte de las pectinas podrían estar unidas a la celulosa, y se liberarían sólo al realizar la HF, de tal manera que, bajo condiciones ácidas fuertes, se produciría pérdida de pectinas junto con liberación de los polisacáridos pécticos que están unidos a la matriz celulósica, lo que queda reflejado en contenidos similares de AU tanto en la HF como en la HS. El nivel de AU cuantificado en el caqui (A-C, III) es más elevado que el contenido de AU que presentan las manzanas (Billy y col., 2008) y fresas (Fraeye y col., 2009). En cambio, la glucosa exhibe niveles significativamente mayores en la HF (173 mg/g RIA), lo que pone de manifiesto que la glucosa presente en el caqui (A-C, III) es de origen celulósico exclusivamente (Jaime, 2000), ya que en la HS tan sólo se hidroliza un 5% del contenido total de este azúcar, porcentaje proveniente posiblemente de la degradación del polisacárido celulosa.

En relación al resto de azúcares, la galactosa muestra niveles similares (50 mg/g RIA, valor medio) con ambas hidrólisis (HF y HS), lo que indica la presencia de galactanos que forman parte de los polisacáridos pécticos de tipo RG-I; probablemente parte de las pectinas están interaccionando con la celulosa a través de las cadenas laterales de azúcares neutros (galactosa). La arabinosa (35 mg/g RIA) aparece en este fruto como uno de los azúcares minoritarios, mostrándose más susceptible a la degradación (27% de descenso en HF respecto a HS). Estos resultados indican que la arabinosa se encuentra formando parte de la matriz péctica de la lámina media. En relación a la xilosa (30 mg/g RIA) y manosa (11 mg/g RIA), se detectan mayores contenidos en la HF, de manera que se pone de manifiesto la naturaleza hemicelulósica de estos azúcares, que estarían unidos a la celulosa, uno de los principales polisacáridos de la pared celular vegetal (Carpita y McCann, 2000).

Estos resultados quedan reflejados en un **perfil de carbohidratos** formado principalmente por ácidos urónicos (AU) (50%) y glucosa (29%) (Figura 38), seguidos de galactosa (8%), arabinosa (6%), xilosa (5%) y manosa (2%), que aparecen en menor proporción (Tabla 8), perfil similar al detectado en ciruelas por Renard y Ginies (2009). Sin embargo, tal como se observa en la bibliografía (Garau y col., 2007; Colin-Henrion y col., 2009; Femenia y col., 2009), en otras frutas (manzanas, kiwis y naranjas) destaca la glucosa seguida de los AU, como principales azúcares constituyentes del RIA.

Tabla 8. Composición del RIA de caquis sin tratamiento de APH (mg/g RIA).

Muestra	Hidrólisis	Azúcares						Total	Lignina Klason	AU:AN	TOTAL
		Glu	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU				
A-C, III	HF	172,6 ± 4,2 ^{*a} _a	29,5 ± 0,3 ^{*a} _a	50,7 ± 2,6 ^a _a	25,7 ± 0,8 ^{*b} _a	10,7 ± 0,7 ^{*a} _a	336,5 ± 17,0	598,3	233,1 ± 4,1 ^a _b	3,5	831,4
	HS	9,4 ± 0,2 ^b _b	25,9 ± 0,3 ^a _a	49,1 ± 1,5 ^a _a	35,3 ± 0,8 ^a _a	4,9 ± 0,4 ^a _a	299,5 ± 18,9 ^a _a				
	%	29	5	8	6	2	50				
NA-C, III	HF	111,9 ± 0,8 ^{*b} _a	27,6 ± 0,1 ^{*b} _a	37,7 ± 0,6 ^{*b} _a	29,6 ± 0,1 ^{*a} _a	5,7 ± 0,0 ^{*b} _a	n.d.	284,6	135,2 ± 2,9 ^b _b	1,1	419,8
	HS	11,4 ± 0,6 ^a _a	10,0 ± 0,6 ^b _a	29,8 ± 0,3 ^b _a	25,5 ± 0,7 ^b _a	1,6 ± 0,1 ^b _a	72,1 ± 3,4 ^b _b				
	%	39	10	13	11	2	25				
A-C, V	HF	147,6 ± 9,5 ^{*a} _a	24,7 ± 1,7 ^a _b	51,6 ± 2,1 ^a _a	17,6 ± 0,8 ^a _b	5,5 ± 0,2 ^a _b	n.d.	392,2	285,7 ± 7,2 ^a _a	2,0	677,9
	HS	14,5 ± 0,7 ^a _a	19,7 ± 1,1 ^a _b	44,1 ± 2,5 ^a _a	19,8 ± 1,0 ^a _b	4,9 ± 0,2 ^a _a	143,0 ± 7,9 ^a _b				
	%	38	6	13	5	1	37				
NA-C, V	HF	79,7 ± 0,0 ^{*b} _b	14,3 ± 0,1 ^{*b} _b	23,2 ± 0,4 ^b _b	14,2 ± 0,2 ^{*b} _b	4,0 ± 0,1 ^{*b} _b	n.d.	299,2	191,4 ± 3,5 ^b _a	3,6	490,6
	HS	10,4 ± 0,7 ^b _a	11,1 ± 0,6 ^b _a	24,3 ± 0,4 ^b _b	19,2 ± 0,7 ^a _b	1,8 ± 0,2 ^b _a	157,7 ± 9,4 ^a _a				
	%	27	5	8	6	1	53				

n.d.: no determinado. AN: Gal + Ara. HF: hidrólisis fuerte. HS: hidrólisis suave. **Efecto de la eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V); Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto de la maduración:** diferencias entre III y V, para muestras con igual astringencia (A ó NA); Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. **Diferencias entre las hidrólisis fuerte (HF) y suave (HS):** Test-T o U de Mann-Whitney; asterisco (*) cuando la diferencia es significativa. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

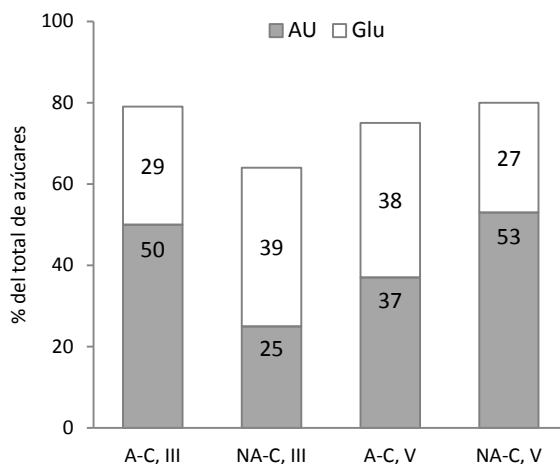


Figura 38. Contribución (%) de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) al contenido total de azúcares del RIA en caquis sin tratamiento de APH.

Por lo tanto, de los resultados obtenidos se deduce que los principales polisacáridos que constituyen el RIA del caqui astringente control de maduración III (A-C, III) son los polisacáridos pécticos, probablemente homogalacturonanos y RG-I, así como celulosa.

- **Caqui no astringente control de maduración III**

En el caqui no astringente control de maduración III (NA-C, III), se constata que el contenido de **azúcares totales** muestra un nivel de 285 mg/g RIA (Tabla 8), valor más bajo que el que suelen presentar las frutas (Garau y col., 2007; Colin-Henrion y col., 2009; Femenia y col., 2009; Renard y Ginies, 2009). Este contenido de azúcares supone un descenso del 52% respecto al contenido de azúcares que constituyen el RIA del caqui astringente (A-C, III). Esta importante pérdida de azúcares puede ser debida al tratamiento de eliminación de la astringencia con CO₂ al que se ha sometido al fruto.

La comparación (Tabla 8) entre los resultados obtenidos en las **hidrólisis HF y HS** muestra diferencias significativas en todos los azúcares neutros (glucosa, galactosa, arabinosa, xilosa y manosa), constatando los contenidos más elevados al realizar la HF. Estos resultados revelan que la glucosa (112 mg/g RIA) forma parte de la celulosa, ya que sólo el 10% de este azúcar se cuantifica en la HS, comportamiento similar al obtenido en el caqui astringente (A-C, III). En relación a los azúcares restantes, los mayores contenidos cuantificados en la HF implican que la galactosa, arabinosa, xilosa

y manosa están unidas a la celulosa, constituyendo probablemente polisacáridos hemicelulósicos y pectinas. Por lo tanto, en comparación con los resultados obtenidos en el caqui astringente (A-C, III), destaca el diferente comportamiento presentado en la arabinosa del caqui no astringente (NA-C, III), puesto que el contenido significativamente más alto se cuantifica en la HF (30 mg/g RIA) en lugar de en la HS (26 mg/g RIA). Esto parece indicar que en los caquis no astringentes (NA-C, III), la arabinosa facilita que las pectinas de las que forma parte estén íntimamente unidas a la matriz celulósica, en lugar de a la matriz péctica de la lámina media/pared primaria (A-C, III). No obstante, cabe indicar que, en base a los mayores contenidos de azúcares cuantificados en la HF, también hubiera sido necesario determinar el nivel de AU en dicha hidrólisis, para así confirmar que el tratamiento con CO₂ provoca la insolubilización de pectinas, debida a la interacción que estos polisacáridos parecen establecer con la celulosa.

Por otra parte, en relación a los **contenidos de los azúcares mayoritarios (AU y Glu)**, es interesante mostrar (Figura 39) que los valores de azúcares encontrados en el caqui no astringente (NA-C, III) son significativamente inferiores a los obtenidos en el caqui astringente (A-C, III), siendo estos menores contenidos de AU y glucosa los que contribuyen en mayor medida a la pérdida de azúcares totales.

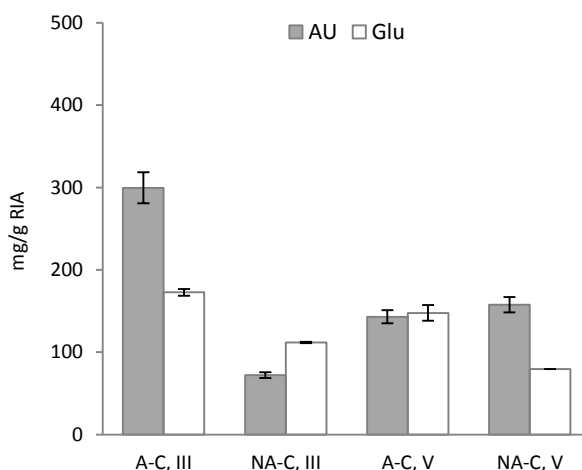


Figura 39. Contenido de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) en caquis sin tratamiento de APH.

Estos contenidos de azúcares conducen a que, en comparación con el caqui astringente (A-C, III), el RIA del caqui no astringente (NA-C, III) presente claras diferencias en relación a sus azúcares constituyentes (**perfil de carbohidratos**), ya que la glucosa

(39%) se exhibe como el azúcar mayoritario, seguido de los AU (25%), en contraposición a lo observado en el caqui astringente (A-C, III), tal como se muestra en la Figura 38. Asimismo, se detecta mayor participación de galactosa (13%), arabinosa (11%) y xilosa (10%), mientras que la manosa (2%) continúa siendo el azúcar minoritario (Tabla 8). Otros autores (Garau y col., 2007; Colin-Henrion y col., 2009; Femenia y col., 2009) constataron que en manzanas, kiwis y naranjas la glucosa también es el azúcar mayoritario de la pared celular.

En definitiva, la eliminación de la astringencia (tratamiento con CO₂) de los caquis de maduración III provoca cambios en los constituyentes de la pared celular de los frutos, promoviendo la degradación y/o solubilización general del total de azúcares, así como la interacción de los polisacáridos no celulósicos con la celulosa. Esto genera mayor contribución de glucosa, galactosa, arabinosa y xilosa, junto con menor presencia de AU en el total de azúcares, que se refleja en una composición diferente de la matriz del fruto, siendo ahora la celulosa el componente mayoritario, junto a hemicelulosas y pectinas íntimamente enlazadas a ésta.

- **Caqui astringente control de maduración V**

Continuando con los caquis control, y atendiendo al proceso de maduración, en la Tabla 8 se observa que el caqui astringente control de maduración V (A-C, V) presenta, respecto al caqui de maduración III (A-C, III), un menor contenido de **azúcares totales** que alcanza 392 mg/g RIA (34% de descenso), consecuencia del metabolismo de la pared celular que ocurre durante el proceso fisiológico de maduración (Brummell y col., 2004). Este valor es similar al que presentan los kiwis maduros (Femenia y col., 2009), pero más bajo que los contenidos de azúcares que suelen detectarse en otras frutas (Garau y col., 2007; Colin-Henrion y col., 2009; Renard y Ginies, 2009).

Atendiendo a los contenidos de azúcares obtenidos tras realizar las **hidrólisis HF y HS**, la comparación de los resultados (Tabla 8) muestra que sólo existen diferencias significativas en los contenidos de glucosa, lo que corrobora nuevamente la naturaleza celulósica de este azúcar (HF: 148 mg/g RIA, HS: 15 mg/g RIA). En relación a los azúcares xilosa y manosa, la obtención de niveles similares en las hidrólisis HF y HS pone de manifiesto que con la maduración se reduce la unión entre estos azúcares y la celulosa. Asimismo, durante la maduración de caquis astringentes se obtienen niveles similares de arabinosa en ambas hidrólisis, lo que probablemente conlleva la disminución de la presencia de arabinanos que permiten a las pectinas interaccionar

con la celulosa. Por lo tanto, la maduración de los caquis astringentes implica pérdida de las interacciones pectina-celulosa y hemicelulosa-celulosa.

A la vista de los resultados obtenidos en relación a los **azúcares mayoritarios (AU y Glu)** que constituyen el RIA, la Figura 39 revela que en comparación con el caqui astringente menos maduro (A-C, III), el caqui más maduro (A-C, V) muestra un nivel similar de glucosa, junto a un contenido significativamente más bajo de AU. Esto implica que la maduración de caquis astringentes favorece la solubilización de la pared celular, de tal manera que los polisacáridos no celulósicos que la constituyen son más susceptibles a degradarse al realizar las hidrólisis ácidas, lo que conlleva la cuantificación de niveles más bajos de azúcares ácidos (AU) que los obtenidos en el caqui astringente menos maduro (A-C, III). Femenia y col. (2009) realizaron estudios en kiwis, donde también constataron que con el avance de la maduración se producían descensos del contenido de AU, consecuencia de la degradación y/o solubilización de las pectinas. Por el contrario, la maduración de otras frutas (manzanas y ciruelas) conlleva incrementos del contenido de AU, tal y como se observa en la bibliografía (Colin-Henrion y col., 2009; Nunes y col., 2009). Asimismo, cabe mostrar que con el avance de la maduración, el descenso constatado en el valor de AU:AN (de 3,5 a 2,0) (Tabla 8) muestra que en el caqui más maduro (A-C, V) las pectinas puedan estar más ramificadas.

Estos resultados quedan reflejados en un **perfil de carbohidratos** que pone de manifiesto que el RIA del caqui astringente de maduración V (A-C, V) está constituido por glucosa (38%) y AU (37%) en igual proporción (Figura 38), y en menor medida galactosa (13%), xilosa (6%), arabinosa (5%) y manosa (1%) (Tabla 8). Colin-Henrion y col. (2009), en el estudio que llevaron a cabo en manzanas, también observaron que la contribución de glucosa y AU al contenido total de azúcares se igualaba con el avance de la maduración de los frutos.

Por lo tanto, la maduración de caquis astringentes implica pérdida del contenido total de azúcares, con menor presencia de AU en el RIA. El perfil de azúcares del RIA del caqui de maduración V (A-C, V) muestra enriquecimiento en polisacáridos ramificados con galactosa, y pérdida de polisacáridos pécticos, lo que incide en que las proporciones de celulosa y polisacáridos pécticos sean similares en el caqui de maduración V.

• **Caqui no astringente control de maduración V**

Finalmente, en la Tabla 8 se observa que en el caqui no astringente control de maduración V (NA-C, V) el contenido **total de azúcares** desciende (24%) respecto al valor del caqui astringente (A-C, V) (392 mg/g RIA), disminución menos acusada que la constatada entre caquis de maduración III (52%). Por el contrario, no se observan cambios destacables respecto al caqui no astringente de maduración III (NA-C, III) (285 mg/g RIA), lo que indica que el tratamiento con CO₂ reduce el contenido total de azúcares hasta que éste alcanza un valor similar, independientemente del estado de maduración (III ó V) del caqui astringente de partida.

La comparación (Tabla 8) de los resultados procedentes de las **hidrólisis ácidas HF y HS** muestra diferencias significativas similares a las obtenidas en el caqui astringente de maduración III (A-C, III), de manera que el RIA del caqui no astringente (NA-C, V) está constituido por sustancias pécticas ricas en ácidos urónicos (158 mg AU/g RIA en HS), así como por celulosa (80 mg Glu/g RIA en HF), y en menor proporción polisacáridos hemicelulósicos asociados mayoritariamente a la celulosa. Así, se pone de manifiesto que, a diferencia de lo que ocurre en maduración III, donde la aplicación del tratamiento con CO₂ provoca la interacción de polisacáridos pécticos y hemicelulósicos con la celulosa, eliminar la astringencia de caquis de maduración V sólo favorece la presencia de interacciones hemicelulosa-celulosa. Por otra parte, los resultados también muestran que la maduración de los caquis no astringentes lleva asociada pérdida de las interacciones pectina-celulosa.

Atendiendo a la descripción detallada de los **azúcares mayoritarios (AU y Glu)**, los cambios generados por efecto de la eliminación de la astringencia (tratamiento con CO₂) en los caquis de maduración V (Figura 39) revelan que el descenso del contenido total de azúcares se debe principalmente a la reducción significativa del nivel de glucosa. Por lo tanto, la eliminación de la astringencia con CO₂ en maduración V implica una importante disminución de celulosa y hemicelulosas asociadas. Las sustancias pécticas, a pesar de mantener su nivel, probablemente estén menos ramificadas con galactosa, ya que el descenso del contenido de galactosa provoca que el valor de la relación AU:AN se incremente de 2,0 a 3,6 (Tabla 8). No obstante, a la vista de los resultados también podría existir cierta conversión de azúcares neutros a azúcares ácidos. Por otra parte, en relación al estado de maduración, el caqui no astringente de maduración V (NA-C, V) presenta diferencias significativas en los contenidos de azúcares en comparación con el caqui de maduración III (NA-C, III).

En concreto, en la Figura 39 se observa, entre caquis no astringentes de distinta maduración (NA-C, III/V), una disminución en el nivel de glucosa (III: 112 mg/g RIA; V: 80 mg/g RIA), y un incremento del contenido de AU (III: 72 mg/g RIA; V: 158 mg/g RIA). Otros autores (Colin-Henrion y col., 2009; Nunes y col., 2009) también constataron incrementos del contenido de AU al realizar la cuantificación de AU en frutas.

El estudio de la composición del RIA del caqui no astringente de maduración V (NA-C, V) indica que los AU (53%) y la glucosa (27%) son los azúcares predominantes (Figura 38), seguidos de galactosa (8%), arabinosa (6%), xilosa (5%) y manosa (1%) (Tabla 8); contribución de azúcares similar a la obtenida en ciruelas por Renard y Ginies (2009). Este **perfil de carbohidratos**, junto con las diferencias significativas constatadas entre hidrólisis (HF, HS), encuentra una extraordinaria similitud con la muestra astringente de maduración III (A-C, III).

En definitiva, aplicar el tratamiento con CO₂ a caquis de maduración V reduce el contenido total de azúcares (menos azúcares neutros y más azúcares ácidos), favorece la presencia de interacciones hemicelulosa-celulosa, y varía la contribución de los azúcares glucosa, galactosa y AU al total. Por otra parte, el proceso de maduración de los caquis no astringentes no afecta de manera considerable al contenido total de azúcares, pero se observa un cambio drástico en la composición de la pared celular de estos frutos, de manera que se produce un descenso significativo de polisacáridos, tanto celulósicos como hemicelulósicos, con el consiguiente aumento de sustancias pécticas.

Para terminar el estudio de la composición de la pared celular vegetal de los caquis control astringentes y no astringentes con grados de maduración III y V, se estudia la **lignina Klason** (Tabla 8), residuo formado principalmente por fenoles que se insolubilizan durante el proceso de hidrólisis ácida (Spiller, 2001). El contenido de lignina Klason del caqui astringente de maduración III (A-C, III) es de 233 mg/g RIA, mientras que el nivel encontrado en el caqui no astringente de igual maduración (NA-C, III) es un 42% inferior. Por lo tanto, la **eliminación de la astringencia en maduración III**, que va acompañada por una reducción del contenido total de azúcares, disminuye el contenido de lignina Klason. Atendiendo a la suma correspondiente de azúcares (neutros + ácidos) y lignina Klason, en la Figura 40 se observa que en el caqui astringente (A-C, III) alcanza un 83% del RIA, es decir, queda un 17% de RIA sin cuantificar. Esta “fracción no analizada” probablemente sea de

naturaleza fenólica, componentes que no han sido objeto de estudio en esta memoria de investigación. En el caqui no astringente (NA-C, III) la “fracción no analizada” es mayoritaria, ya que supone el 58% del contenido total de la pared celular, y es probable que esté constituida por proantocianidinas insolubles, debido a que estos compuestos tienden a quedarse adsorbidos en la pared celular (Bindon y col., 2010b, 2012; Le Bourvellec y col., 2007).

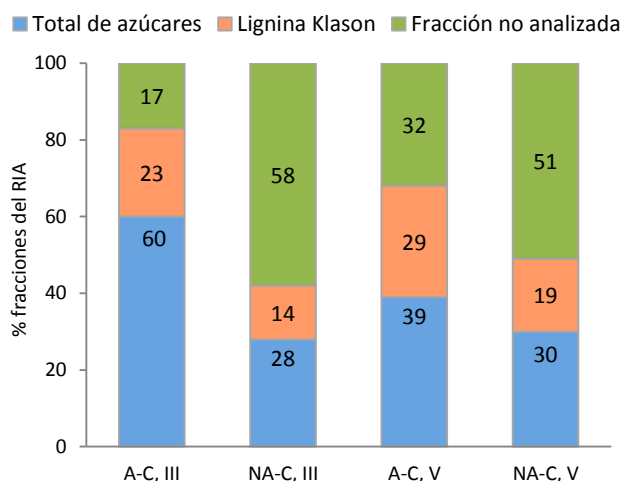


Figura 40. Distribución (%) de las distintas fracciones del RIA de caquis sin tratamiento de APH.

Por otra parte, cuando el caqui astringente de maduración V (A-C, V) se compara con el fruto de maduración III (A-C, III), se constata un aumento significativo (23%) del contenido de lignina Klason, de manera que la **maduración de caquis astringentes**, que va asociada a una disminución del contenido total de azúcares, genera un aumento del nivel de lignina Klason. Esto supone que la “fracción no analizada” tenga mayor contribución en el RIA, pasando del 17% (A-C, III) al 32% (A-C, V), tal como se muestra en la Figura 40.

El nivel de lignina Klason del caqui no astringente control de maduración V (NA-C, V) es de 191 mg/g RIA. Por lo tanto, la **eliminación de la astringencia en maduración V**, que supone reducción del contenido total de azúcares, va acompañada por una disminución significativa (33%) de lignina Klason, lo que provoca que la contribución de la “fracción no analizada” sea mayor (Figura 40).

Por último, atendiendo a la **maduración de caquis no astringentes**, se observa que al comparar entre sí los caquis no astringentes de distinta maduración (NA-C, III/V), el nivel de lignina Klason aumenta significativamente un 42%, lo que se contrarresta

con una menor contribución de la “fracción no analizada” al contenido total de RIA, al tiempo que la contribución del total de azúcares no se modifica de manera destacable (Figura 40). Cabe destacar que la aportación de la “fracción no analizada” se incrementa notablemente al eliminar la astringencia de los caquis, así como con el avance de la maduración de los caquis astringentes, lo que parece estar directamente relacionado con la insolubilización de proantocianidinas (Bindon y col., 2012).

- **Conclusiones parciales**

A la vista de los resultados obtenidos se deduce que en los caquis control astringentes, el RIA está constituido mayoritariamente por azúcares (neutros y ácidos). Sin embargo, en los caquis no astringentes esta fracción es minoritaria, y son probablemente las proantocianidinas insolubles las que tienen mayor presencia en el RIA. La eliminación de la astringencia (tratamiento con CO₂) reduce el contenido total de azúcares, siendo esta pérdida más acusada cuando el estado de maduración es III, y tiende a generar interacciones entre los polisacáridos no celulósicos y la matriz celulósica. Asimismo, la aplicación de CO₂ modifica la distribución de los azúcares mayoritarios que constituyen el RIA, lo que depende del estado de maduración del caqui; en maduración III, la contribución de AU disminuye y la de glucosa aumenta, tendencia contraria a la observada en maduración V.

Por otra parte, la maduración sólo afecta al contenido total de azúcares cuando los caquis son astringentes. Además, la maduración de los frutos modifica la distribución de los azúcares del RIA, lo que depende de la astringencia que tengan los caquis; la maduración de los caquis no astringentes favorece una mayor presencia de AU en el RIA, efecto contrario al que genera en los caquis astringentes.

Efecto de las APH sobre la Composición del RIA

En este bloque se sigue una estructura similar a la establecida en el bloque anterior, donde se ha tratado la composición del RIA de las muestras control. Para seguir con facilidad los comentarios de este bloque se debe tener en cuenta que los resultados de las muestras tratadas con APH se van comparando en todos los casos respecto a su control correspondiente. Si se considera relevante también se establecen comparaciones entre distintos tiempos de exposición al tratamiento de APH para una presión dada (200 ó 400 MPa). Cabe indicar que hasta la fecha no existen otros

estudios similares en los que se analice el efecto que las APH ejercen sobre la composición del RIA en frutas.

- **Caquis astringentes de maduración III (A, III)**

La influencia de las APH sobre la composición de la pared celular de caquis astringentes de maduración III (A, III) lleva a realizar las siguientes consideraciones. Con los tratamientos de APH, se observa respecto al control (A-C, III) un descenso del contenido **total de azúcares**. Las mayores pérdidas de azúcares totales suponen reducciones del 33 y 40%, y se alcanzan al aplicar 400 MPa/1 y 3 min, respectivamente (Figura 41a).

Los resultados obtenidos en las **hidrólisis HF y HS** (Tabla 9) muestran que los caquis astringentes de maduración III (A, III) sometidos a APH presentan, al igual que el caqui control (A-C, III) (Tabla 8), contenidos significativamente más elevados de glucosa y arabinosa en las hidrólisis HF y HS, respectivamente, lo que implica que en las muestras tratadas con APH la glucosa continúa siendo de origen celulósico, y que la arabinosa forma parte de los polisacáridos pécticos de la lámina media.

Sin embargo, para el resto de azúcares (AU, galactosa, xilosa y manosa) se encuentran diferencias respecto a lo descrito anteriormente para el caqui control (A-C, III) (Tabla 8). En concreto, atendiendo a los AU se constata que, si bien la aplicación de 200 MPa/1 y 6 min mantiene sin cambios significativos los niveles de AU entre las hidrólisis HF y HS, el tratamiento de 200 MPa/3 min provoca una reducción significativa del contenido de AU en la HF en comparación con la HS. Estos resultados parecen indicar que algunos tratamientos de APH degradan la interacción que las pectinas establecen con la celulosa. En relación a la galactosa, los tratamientos de 3 y 6 min mantienen sin variaciones los contenidos de este azúcar, pero cuando se aplican 200 y 400 MPa/1 min se observan contenidos significativamente distintos en HF y HS, obteniendo un nivel de galactosa más elevado en HS. De este modo, los tratamientos de sólo 1 min podrían degradar los polisacáridos ricos en galactosa, lo que implica la pérdida de interacciones entre las matrices péctica y celulósica. Respecto a la xilosa, se observa que los tratamientos de APH provocan que el contenido significativamente mayor de este azúcar se encuentre en la HS, tendencia contraria a la constatada en el control (A-C, III) (Tabla 8).

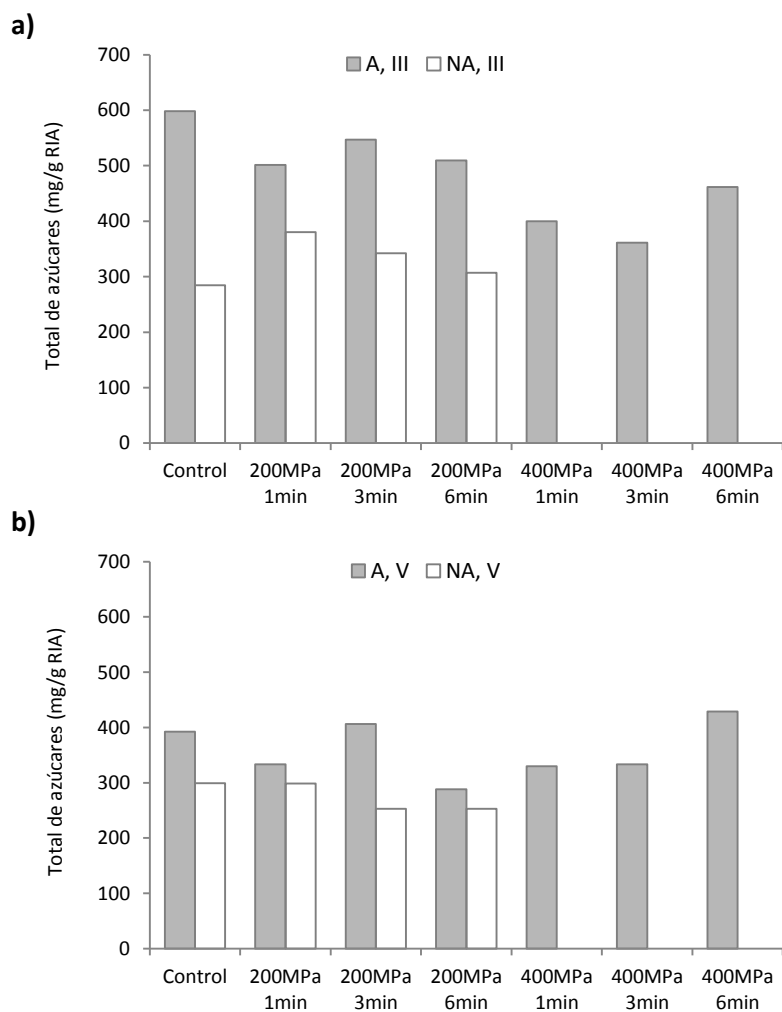


Figura 41. Contenido total de azúcares del RIA en caquis: (a) de maduración III (astringentes y no astringentes), (b) de maduración V (astringentes y no astringentes).

Tabla 9. Composición del RIA de caquis astringentes de maduración III (A, III) (mg/g RIA).

Muestra	Hidrólisis	Azúcares						Total	Lignina Klason	AU:AN	TOTAL
		Glu	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU				
A-C	HF	172,6 ± 4,2* ^A	29,5 ± 0,3* ^A	50,7 ± 2,6 ^A	25,7 ± 0,8* ^A	10,7 ± 0,7* ^A	336,5 ± 17,0 ^A	598,3	233,1 ± 4,1 ^D	3,5	831,4
	HS	9,4 ± 0,2 ^C	25,9 ± 0,3 ^A	49,1 ± 1,5 ^{BC}	35,3 ± 0,8 ^A	4,9 ± 0,4 ^D	299,5 ± 18,9 ^{AB}				
	%	29	5	8	6	2	50				
A-200/1	HF	137,3 ± 1,2* ^{C_a}	11,2 ± 0,3* ^{E_b}	38,3 ± 2,2* ^{BC_b}	12,3 ± 0,3* ^{BCD_b}	6,0 ± 0,3* ^{BC_b}	223,2 ± 3,3 ^{BC_a}	501,5	403,4 ± 2,7 ^{A_a}	3,5	904,9
	HS	15,5 ± 0,6 ^{A_a}	20,0 ± 0,3 ^{BC_a}	47,2 ± 2,1 ^{BC_a}	27,1 ± 0,8 ^{C_a}	12,4 ± 0,7 ^{A_a}	257,5 ± 13,9 ^{B_a}				
	%	27	4	10	5	3	51				
A-200/3	HF	135,6 ± 1,3* ^{C_a}	17,1 ± 0,3* ^{B_b}	43,0 ± 2,1 ^{AB_a}	15,5 ± 0,2* ^{AB_b}	5,8 ± 0,6 ^{BC_a}	214,6 ± 9,4* ^{C_a}	547,1	304,3 ± 4,8 ^{C_a}	4,2	851,4
	HS	14,3 ± 0,4 ^{A_b}	20,1 ± 0,5 ^{BC_a}	46,2 ± 1,1 ^{BC_a}	28,0 ± 0,7 ^{BC_a}	5,8 ± 0,4 ^{CD_a}	311,4 ± 20,7 ^{A_a}				
	%	25	4	8	5	1	57				
A-200/6	HF	126,1 ± 0,3* ^{D_a}	12,9 ± 0,3* ^{D_b}	43,5 ± 3,0 ^{AB_a}	14,4 ± 0,5* ^{BC_b}	7,2 ± 0,1 ^{B_a}	261,3 ± 16,8 ^{B_a}	509,4	356,5 ± 8,3 ^{B_a}	3,3	865,9
	HS	10,8 ± 0,3 ^{BC_a}	19,2 ± 0,4 ^{BC_a}	53,5 ± 3,5 ^{B_a}	29,5 ± 0,8 ^{B_a}	6,4 ± 0,3 ^{C^a}	273,9 ± 10,0 ^{AB_a}				
	%	25	4	10	6	1	54				
A-400/1	HF	117,0 ± 2,2* ^{E_a}	9,0 ± 0,7* ^{F_b}	33,7 ± 1,7* ^{C_b}	8,8 ± 0,4* ^{D_b}	5,1 ± 0,4 ^{CD_a}	n.d.	400,2	358,9 ± 10,7 ^{B_a}	2,9	759,1
	HS	11,5 ± 0,6 ^{B_a}	17,5 ± 0,4 ^{CD_a}	43,8 ± 1,6 ^{BC_a}	22,7 ± 0,4 ^{D_a}	6,1 ± 0,1 ^{CD_a}	193,1 ± 5,1 ^{C_a}				
	%	29	4	11	6	2	48				
A-400/3	HF	123,4 ± 3,5* ^{DE_a}	15,7 ± 0,4 ^{BC_a}	43,7 ± 3,1 ^{AB_a}	12,3 ± 0,3* ^{CD_a}	7,0 ± 0,5 ^{B_a}	n.d.	361,5	288,2 ± 5,1 ^{C_b}	2,2	649,7
	HS	12,1 ± 0,3 ^{B_a}	16,5 ± 0,3 ^{D_a}	39,6 ± 3,0 ^{C_a}	24,4 ± 0,8 ^{D_a}	5,8 ± 0,4 ^{CD}	146,5 ± 8,7 ^{D_a}				
	%	34	5	12	7	2	40				

Tabla 9. (continuación) Composición del RIA de caquis astringentes de maduración III (A, III) (mg/g RIA).

Muestra	Hidrólisis	Azúcares						Total	Lignina Klason	AU:AN	TOTAL
		Glu	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU				
A-400/6	HF	148,4 ± 3,0*B _a	15,4 ± 0,9*C _a	51,5 ± 2,9A _a	14,6 ± 1,1*ABC _a	4,1 ± 0,3*D _a	n.d.	461,5	355,8 ± 2,6B _a	1,8	817,3
	HS	15,0 ± 0,9A _a	21,8 ± 0,9B _a	66,8 ± 7,4A _a	33,7 ± 0,6A _a	11,1 ± 0,3B	179,7 ± 10,4CD _b				
	%	32	5	15	7	2	39				

n.d.: no determinado. AN: Gal + Ara. HF: hidrólisis fuerte. HS: hidrólisis suave.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre tratamientos de APH en muestras con igual maduración (III) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla 10), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla 11), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. **Diferencias entre hidrólisis fuerte (HF) y suave (HS):** Test-T o U de Mann-Whitney; asterisco (*) cuando la diferencia es significativa. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Estos resultados ponen de manifiesto que, en general, los polisacáridos hemicelulósicos ricos en xilosa de los caquis astringentes de maduración III tratados con APH parecen estar junto a pectinas, siendo fácilmente degradables.

Por otra parte, realizando una descripción más detallada de los **azúcares mayoritarios (AU y Glu)**, en primer lugar en la Figura 42 se observa que, en relación a los AU, al comparar los contenidos de azúcares de los caquis tratados con APH y el caqui control (A-C, III), los niveles de AU son similares cuando la presión aplicada es de 200 MPa (286 mg/g RIA, valor medio), pero el contenido de estos azúcares ácidos disminuye significativamente entre un 36 y 51% respecto al control (A-C, III) cuando se aplican 400 MPa. Por lo tanto, cuando la presión del tratamiento es superior a 200 MPa las APH provocan degradación y/o solubilización de pectinas. Fijando la presión y comparando tiempos, se constata que el factor tiempo sólo provoca cambios significativos entre 1 y 3 min, alcanzando con 200 MPa/1 min y 400 MPa/3 min los niveles de AU significativamente más bajos (258 y 147 mg/g RIA, respectivamente).

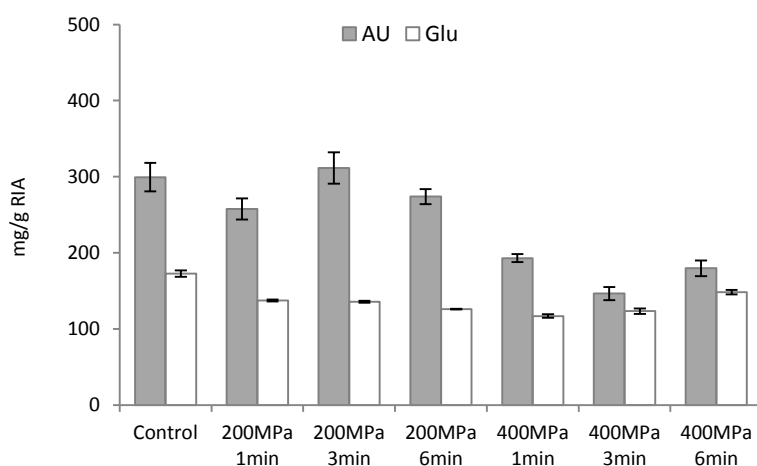


Figura 42. Contenido de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) en caquis astringentes de maduración III tratados con APH.

Atendiendo a la glucosa (Figura 42), con todos los tratamientos de APH se observan respecto al control (A-C, III) descensos significativos de este azúcar, en un intervalo del 14-32%, encontrando las pérdidas más acusadas al aplicar 400 MPa/1 y 3 min (120 mg/g RIA, valor medio), de manera que las APH tienden a degradar y/o solubilizar los polisacáridos celulósicos. La influencia de la duración del tratamiento de APH revela que los cambios significativos sólo se encuentran al prolongar el tiempo hasta 6 min.

Estos niveles de glucosa presentan correlaciones significativas directa e inversa con los contenidos de FS y RIA, respectivamente (Figura A.6 del Anexo).

Estos resultados obtenidos en los caquis astringentes de maduración III tratados con APH (A, III) generan, respecto al total de azúcares, un **perfil de azúcares** (Tabla 9) parecido al que presenta el caqui control (A-C, III): los AU son los azúcares mayoritarios, representando entre el 51-57% y 39-48% (para 200 y 400 MPa, respectivamente), seguido de la glucosa con 25-34% y galactosa con 8-15%. En el caso de los tratamientos 400 MPa/3 y 6 min la presencia de AU y glucosa es similar. Es interesante mostrar que en los azúcares mayoritarios, en general, al aplicar APH se encuentran cambios cuantitativos (Tabla 9), pero no cualitativos (Figura 43) respecto al control (A-C, III), por lo que se mantiene un perfil similar de polisacáridos (pectinas y celulosa). En cuanto a la relación AU:AN, se observa que los caquis sometidos a 200 MPa presentan valores similares al control (A-C, III). Por el contrario, presiones mayores conducen a relaciones menores, ocasionadas por el drástico descenso de AU en el RIA de estas muestras.

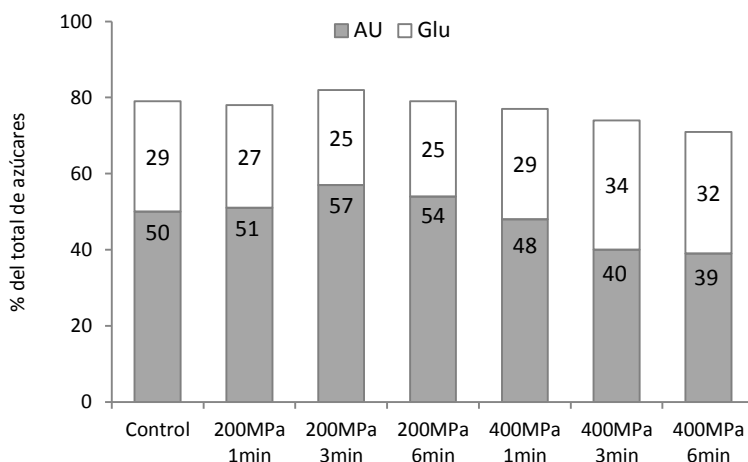


Figura 43. Contribución (%) de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) al contenido total de azúcares del RIA en caquis astringentes de maduración III tratados con APH.

Finalmente, en relación a la **lignina Klason**, los resultados obtenidos (Tabla 9) ponen de manifiesto que, con todos los tratamientos de APH estudiados, se logran contenidos significativamente más elevados que el contenido de lignina Klason del caqui control (A-C, III), alcanzando el mayor incremento al aplicar 200 MPa/1 min (73% de aumento). Este aumento probablemente se deba a que la lignina Klason puede contener proantocianidinas insolubles (Bindon y col., 2012). Estos contenidos

de lignina Klason muestran una correlación significativa inversa con los niveles de FS (Figura A.6 del Anexo).

En relación a estos resultados, en la Figura 44 se muestra que al aplicar APH la pérdida de azúcares se compensa principalmente con una mayor presencia de lignina Klason en la distribución del RIA, y se pone de manifiesto que sólo cuando se aplican tratamientos de 400 MPa, la “fracción no analizada” se incrementa de manera destacable. Estudios previos pusieron de manifiesto que la aplicación de APH en caquis astringentes de maduración III provocaba la pérdida de astringencia (Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b, 2013; Hernández-Carrión y col., 2014a), la cual se asocia con la insolubilización de proantocianidinas (Novillo y col., 2015), y que parece estar relacionada con la lignina Klason.

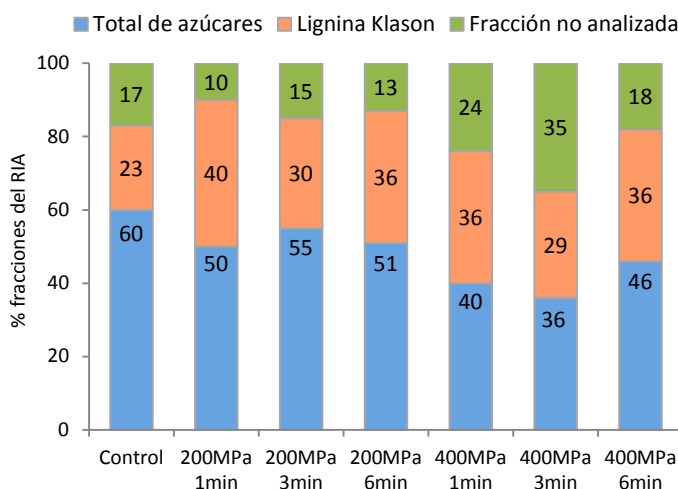


Figura 44. Distribución (%) del RIA en sus distintas fracciones en caquis astringentes de maduración III tratados con APH.

En resumen, la aplicación de APH a caquis astringentes de maduración III provoca, en comparación con el control (A-C, III), degradación y/o solubilización de los polisacáridos de la pared celular, siendo más acusada al aplicar tratamientos de 400 MPa. Esta constatación queda reflejada en una reducción del contenido total de azúcares que constituyen el RIA, debida principalmente a pérdida de celulosa (200 MPa) o de celulosa y pectinas (400 MPa); los tratamientos de 200 MPa tienen la capacidad de disminuir significativamente sólo el contenido de glucosa, manteniendo el nivel de AU sin cambios, mientras que los tratamientos de 400 MPa disminuyen significativamente tanto el nivel de glucosa como el de AU. El perfil de azúcares es

similar al del caqui control (A-C, III), siendo los AU y la glucosa los azúcares mayoritarios. Respecto a la lignina Klason, las APH incrementan su contenido, con independencia de la presión aplicada.

- **Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)**

El estudio realizado sobre el efecto de las APH en caquis no astringentes de maduración III (NA, III) sólo se lleva a cabo con la presión de 200 MPa, ya que en base a los interesantes resultados de microestructura y carotenoides (Plaza y col., 2012; Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b) obtenidos por los otros dos grupos de investigación que también forman parte del proyecto coordinado (AGL2008-04798-C02-01/ALI) en el que se enmarca esta Tesis, se consideró prioritario profundizar en los tratamientos de 200 MPa.

En primer lugar, en la Figura 41a se observa respecto al control (NA-C, III) un aumento del contenido **total de azúcares** en las muestras tratadas con APH, más acusado al aplicar 200 MPa/1 min (34% de aumento respecto al control). Este incremento en el nivel de azúcares disminuye a medida que la duración del tratamiento se prolonga. Por otra parte, tal y como se constata en la Figura 41a, la comparación del contenido total de azúcares en caquis no astringentes de maduración III tratados con APH (NA, III) y en sus correspondientes caquis astringentes (A, III) (efecto eliminación de la astringencia en maduración III) muestra que, para todos los tratamientos de APH estudiados (200 MPa), los caquis astringentes son los que contienen el mayor contenido de azúcares. Por lo tanto, las APH incrementan el contenido total de azúcares en los caquis no astringentes de maduración III, pero no suplen totalmente la pérdida de azúcares que ocasiona el tratamiento previo con CO₂.

En relación a los resultados obtenidos en las **hidrólisis HF y HS**, en la Tabla 10 se muestra que los caquis no astringentes de maduración III (NA, III) tratados con APH presentan, al igual que el caqui control (NA-C, III) (Tabla 8), niveles significativamente mayores de glucosa, xilosa y manosa en la hidrólisis HF, lo que indica la presencia de celulosa, junto con polisacáridos que contienen xilosa y manosa unidas a la matriz celulósica. Como diferencias respecto a las tendencias constatadas en la muestra control (NA-C, III), sólo es destacable que la galactosa y la arabinosa muestran niveles significativamente mayores en la HS en lugar de en la HF, cuando se aplican 200 MPa/6 min (galactosa) y 200 MPa/3-6 min (arabinosa). Estos resultados indican

Tabla 10. Composición del RIA de caquis no astringentes de maduración III (NA, III) (mg/g RIA).

Muestra	Hidrólisis	Azúcares						Total	Lignina Klason	AU:AN	TOTAL
		Glu	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU				
NA-C	HF	111,9 ± 0,8*B	27,6 ± 0,1*B	37,7 ± 0,6*B	29,6 ± 0,1*B	5,7 ± 0,0*C	n.d.	284,6	135,2 ± 2,9C	1,1	419,8
	HS	11,4 ± 0,6C	10,0 ± 0,6C	29,8 ± 0,3B	25,5 ± 0,7B	1,6 ± 0,1C	72,1 ± 3,4B				
	%	39	10	13	11	2	25				
NA-200/1	HF	128,4 ± 0,7*A ^b _a	31,8 ± 0,0*A ^a _a	46,7 ± 0,4A ^a _a	33,8 ± 0,1A ^a _a	7,2 ± 0,1*A ^a _a	n.d.	380,6	160,6 ± 3,1B ^b _b	1,6	541,2
	HS	13,1 ± 0,3B ^b _a	14,5 ± 1,1A ^b _a	38,4 ± 3,0A ^a _a	33,8 ± 2,9A ^a _a	2,7 ± 0,2A ^b _a	132,7 ± 9,5A ^b _a				
	%	34	8	12	9	2	35				
NA-200/3	HF	106,1 ± 0,4*C ^b _a	21,7 ± 0,3*C ^a _a	37,1 ± 0,3B ^b _a	23,3 ± 0,0*C ^a _a	6,2 ± 0,1*B ^a _a	n.d.	342,0	231,8 ± 4,1A ^b _a	2,1	573,8
	HS	16,2 ± 0,5A ^a _a	11,8 ± 0,0BC ^b _a	34,1 ± 1,8AB ^b _a	29,0 ± 0,1AB ^a _a	1,9 ± 0,2BC ^b _a	141,9 ± 0,8A ^b _a				
	%	31	6	11	8	2	42				
NA-200/6	HF	70,7 ± 0,9*D ^b _a	17,0 ± 0,6*D ^a _a	29,6 ± 1,3*C ^b _a	19,6 ± 0,2*D ^a _a	3,8 ± 0,1*D ^b _a	n.d.	307,2	141,7 ± 3,0C ^b _b	2,2	448,9
	HS	12,0 ± 0,6BC ^a _a	12,4 ± 0,5AB ^b _a	38,1 ± 1,8A ^b _a	29,3 ± 0,5AB ^a _a	2,2 ± 0,1B ^b _a	148,3 ± 5,4A ^b _a				
	%	23	6	12	10	1	48				

n.d.: no determinado. AN: Gal + Ara. HF: hidrólisis fuerte. HS: hidrólisis suave.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre tratamientos de APH en muestras con igual maduración (III) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla 9) y NA, para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla 12), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. **Diferencias entre hidrólisis fuerte (HF) y suave (HS):** Test-T o U de Mann-Whitney; asterisco (*) cuando la diferencia es significativa. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

cambios estructurales en los polisacáridos pécticos y hemicelulósicos de estos caquis, que probablemente dejen de estar unidos a la celulosa cuando se aplican tratamientos de 200 MPa.

El efecto de eliminación de la astringencia en maduración III pone de manifiesto (Tablas 9 y 10) que si se elimina con CO₂ la astringencia de los caquis de maduración III (A, III) y a continuación se aplican APH, será necesario un mayor tiempo de exposición (6 min) a la presión para eliminar la interacción pectina-celulosa.

Si se realiza una descripción más detallada de los **azúcares mayoritarios (AU y Glu)** que constituyen el RIA (Figura 45), atendiendo al contenido de AU se encuentra que al comparar los caquis tratados con APH frente al caqui control (NA-C, III), el nivel de AU de las muestras tratadas con 200 MPa experimenta un incremento significativo. Al fijar la presión y comparar entre sí la duración de los tratamientos, no se observan variaciones significativas en los contenidos de AU (133-148 mg/g RIA). Además, cabe mencionar que al comparar caquis de maduración III y distinta astringencia (A/NA, III) sometidos al mismo tratamiento de APH (efecto eliminación de la astringencia en maduración III), los caquis astringentes son los que presentan los contenidos significativamente más elevados de AU (Tablas 9 y 10).

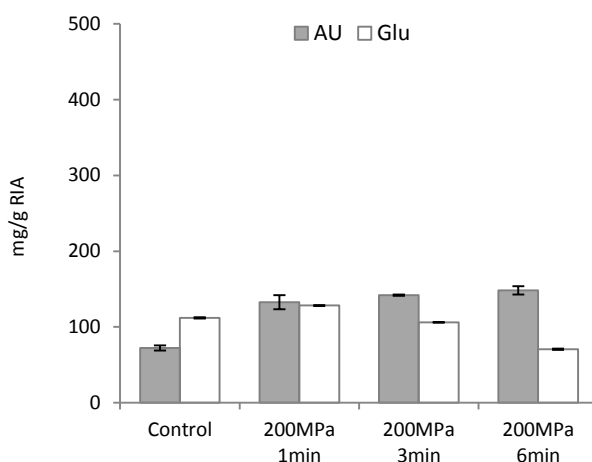


Figura 45. Contenido de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) en caquis no astringentes de maduración III tratados con APH.

En relación al contenido de glucosa, se destaca que al aplicar 200 MPa/3 y 6 min se encuentran descensos significativos respecto al nivel del control (NA-C, III), tal y como se observa en la Figura 45.

Por otra parte, al ir incrementando el tiempo se inducen descensos significativos en los contenidos de glucosa. Por lo tanto, la influencia que las APH tienen sobre este azúcar pone de manifiesto la degradación y/o solubilización de polisacáridos de origen celulósico a medida que transcurre el tiempo de exposición a la presión. La comparación de los contenidos de glucosa obtenidos en caquis de maduración III y distinta astringencia sometidos al mismo tratamiento de APH (efecto eliminación de la astringencia en maduración III) revela que, al igual que ocurre en los AU, los niveles significativamente más elevados se cuantifican en los caquis astringentes (Tablas 9 y 10).

En cuanto al **perfil de azúcares** (Figura 46), las muestras no astringentes (NA, III) tratadas con 200 MPa presentan diferencias respecto a la composición del control (NA-C, III). Los caquis sometidos a APH exhiben un drástico incremento de AU, del 25% (NA-C, III) al 48% (muestra tratada con 200 MPa/6 min), acompañado por un descenso de la participación de glucosa, del 39% (NA-C, III) al 23% (200 MPa/6 min). Por lo tanto, en caquis no astringentes de maduración III (NA, III), los tratamientos de 200 MPa provocan respecto al control (NA-C, III) cambios no sólo cuantitativos (Figura 45), sino también cualitativos (Figura 46) en los azúcares mayoritarios que constituyen el RIA. El efecto de eliminación de la astringencia en maduración III (Tablas 9 y 10) muestra que eliminar la astringencia con CO₂ antes de aplicar APH provoca que los AU no sean tan predominantes como en los frutos astringentes (A, III).

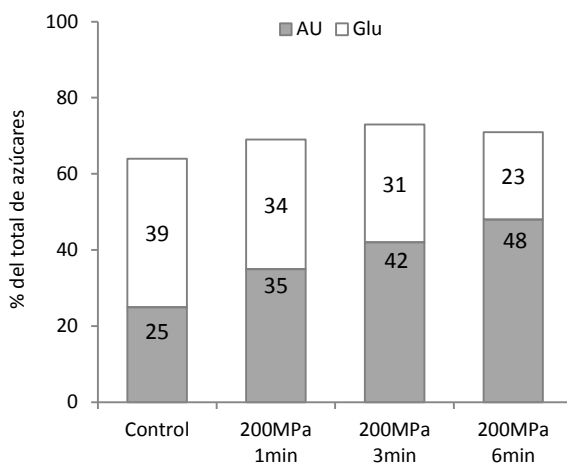


Figura 46. Contribución (%) de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) al contenido total de azúcares del RIA en caquis no astringentes de maduración III tratados con APH.

Para concluir el análisis del RIA de los caquis no astringentes de maduración III sometidos a APH, se estudia el comportamiento de la **lignina Klason** (Tabla 10), observándose en comparación con el control (NA-C, III), incrementos significativos del 18 y 71% en las muestras sometidas a 200 MPa/1 y 3 min, respectivamente. Es interesante destacar que estos niveles de lignina Klason encontrados en caquis no astringentes (NA, III) son significativamente inferiores a los contenidos que presentan los caquis astringentes (A, III) (Tabla 9), para igual tratamiento de APH (200 MPa) (efecto eliminación de la astringencia en maduración III); estos descensos representan el 60, 24 y 60% con respecto a las muestras astringentes (A, III) para 1, 3 y 6 min, respectivamente. En general, y en comparación con los caquis astringentes (A, III), los caquis no astringentes (NA, III) presentan menores contribuciones de lignina Klason y azúcares totales (Figuras 44 y 47).

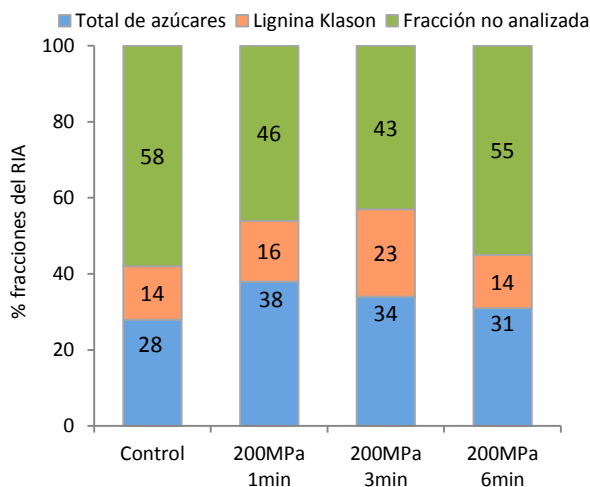


Figura 47. Distribución (%) del RIA en sus distintas fracciones, en caquis no astringentes de maduración III tratados con APH.

En definitiva, la aplicación de los tratamientos de 200 MPa/1, 3 y 6 min sobre caquis no astringentes de maduración III provoca, respecto al caqui control (NA-C, III), un incremento generalizado del contenido total de azúcares, principalmente debido al aumento del nivel de AU. Asimismo, la aplicación de APH conlleva pérdida de polisacáridos celulósicos (por descenso de glucosa), lo que favorece el enriquecimiento de pectinas del RIA.

• **Caquis astringentes de maduración V (A, V)**

Cuando se aplican tratamientos de APH a caquis astringentes de maduración V (Tabla 11), en relación a la composición del RIA se pueden realizar los siguientes comentarios. En comparación con el control (A-C, V) (392 mg/g RIA), en la Figura 41b se observa, en general, una disminución del contenido **total de azúcares** en las muestras tratadas con 200 MPa (descenso medio del 21%) y 400 MPa (descenso medio del 16%), excepto en las muestras sometidas a 200 MPa/3 min y 400 MPa/6 min, que presentan ligeros ascensos. A la vista de estos resultados, en las Figuras 41a y 41b queda reflejado que al comparar las muestras astringentes de maduración V tratadas con APH (A, V) con sus correspondientes muestras astringentes de maduración III (A, III) (efecto maduración en caquis astringentes), el contenido total de azúcares es más bajo en los caquis más maduros (V). En relación a estos resultados también se constata que, con respecto al control (A-C), la reducción del contenido total de azúcares en los caquis tratados con APH es menos importante en los caquis astringentes de maduración V, aunque se debe tener en cuenta que el control más maduro (A-C, V) muestra un nivel total de azúcares más bajo que el control menos maduro (A-C, III). Por lo tanto, la aplicación de APH a caquis astringentes de maduración V provoca, una pérdida de azúcares menos drástica que la generada cuando los caquis tienen grado de maduración III (A, III).

Por otra parte, los resultados obtenidos en las **hidrólisis HF y HS** (Tabla 11) para cada una de las muestras astringentes más maduras (A, V) indican cambios estructurales en los polisacáridos que componen el RIA al aplicar APH. En primer lugar, el contenido más elevado de AU se detecta en la HS, para todas las muestras tratadas con APH, excepto para las que han sido sometidas a 200 MPa/1 y 6 min. Estos dos tratamientos no generan diferencias significativas entre los niveles de AU de ambas hidrólisis (HF, HS), de manera que la mayoría de las pectinas no llegan a interaccionar con la celulosa. En el caso de glucosa y galactosa, los resultados de las muestras tratadas con APH son similares a las tendencias detectadas en el control (A-C, V) (Tabla 8), ya que se encuentran contenidos de glucosa significativamente más altos en la hidrólisis 12 M (HF), que constatan la existencia de celulosa, junto con niveles similares de galactosa en las dos hidrólisis (HF y HS). Sólo al aplicar 200 MPa/6 min el contenido significativamente mayor de galactosa se constata en la HS, lo que implica que algunos tratamientos de APH podrían eliminar la interacción entre los polisacáridos pécticos y la celulosa. En cambio, en lo relativo a la xilosa y arabinosa no se encuentran las mismas pautas que en la muestra control (A-C, V) (Tabla 8), ya que

las muestras tratadas con APH exhiben niveles significativamente distintos en HF y HS, constatando los contenidos más elevados en la hidrólisis 0,6 M (HS), lo que indica la posible separación y/o degradación de polisacáridos hemicelulósicos y péclicos de la matriz celulósica.

Al comparar los resultados obtenidos en las hidrólisis HF y HS de caquis astringentes de distinta maduración (A, III/V) sometidos al mismo tratamiento de APH (efecto maduración en caquis astringentes), no se constatan variaciones destacables (Tablas 9 y 11), ya que con independencia de que el estado de maduración del caqui astringente sea III ó V, la aplicación de APH tiende a eliminar las interacciones pectina-celulosa y hemicelulosa-celulosa. Por lo tanto, el estado de maduración de los caquis astringentes no parece ser un factor relevante en relación al efecto que las APH ejercen sobre las uniones que se establecen entre los polisacáridos de la pared celular. En ambos tipos de muestras (A, III/V), el RIA está constituido por una matriz péclica y, en menor proporción, por una matriz celulósica.

Tal y como se observa en la Figura 48, el estudio de la composición de los **azúcares mayoritarios (AU y Glu)** muestra que el contenido de AU de los caquis astringentes de maduración V tratados con APH (129-170 mg/g RIA) tiende a ser similar al nivel de AU constatado en el control (A-C, V) (143 mg/g RIA), ya que sólo al aplicar 200 MPa/3 min y 400 MPa/6 min se detectan aumentos significativos del 73 y 71%, respectivamente. Atendiendo a los tiempos de tratamiento, se destaca que a 200 MPa existen diferencias significativas entre 1, 3 y 6 min, obteniendo el valor más elevado de AU a 3 min (248 mg/g RIA), mientras que a 400 MPa los cambios significativos sólo se encuentran al pasar de 3 a 6 min (245 mg/g RIA). Por lo tanto, la aplicación de APH a caquis astringentes de maduración V no conlleva pérdida de pectinas.

Los contenidos cuantificados de AU también muestran que las APH tienen un efecto diferente dependiendo del estado de maduración de los frutos astringentes (efecto maduración en caquis astringentes). Si el caqui es de maduración III (Tabla 9), la presión es el factor que determina el efecto que las APH tienen sobre el nivel de AU; aplicar 200 MPa mantiene el contenido de pectinas del control (A-C, III), y 400 MPa degrada y/o solubiliza las pectinas. En cambio, si el caqui astringente se encuentra en estado de maduración V (Tabla 11), la combinación presión/tiempo es la que condiciona cómo influyen las APH sobre el nivel de AU; se pueden conseguir tanto

Tabla 11. Composición del RIA de caquis astringentes de maduración V (A, V) (mg/g RIA).

Muestra	Hidrólisis	Azúcares						Total	Lignina Klason	AU:AN	TOTAL
		Glu	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU				
A-C	HF	147,6 ± 9,5* ^A	24,7 ± 1,7 ^A	51,6 ± 2,1 ^A	17,6 ± 0,8 ^A	5,5 ± 0,2 ^A	n.d.	392,2	285,7 ± 7,2 ^C	2,0	677,9
	HS	14,5 ± 0,7 ^A	19,7 ± 1,1 ^A	44,1 ± 2,5 ^A	19,8 ± 1,0 ^A	4,9 ± 0,2 ^A	143,0 ± 7,9 ^{BC}				
	%	38	6	13	5	1	37				
A-200/1	HF	89,4 ± 0,3* ^{BCb_b}	6,5 ± 0,0* ^{CDb_b}	40,7 ± 0,4 ^{CDa_a}	8,1 ± 0,1* ^{CDb_b}	4,5 ± 0,1* ^{Bb_b}	136,9 ± 1,7 ^{BCb_b}	333,4	394,1 ± 6,0 ^{Aa_a}	2,7	727,5
	HS	9,3 ± 0,0 ^{Cb_b}	10,2 ± 0,2 ^{Ba_b}	39,9 ± 0,4 ^{Aa_b}	20,6 ± 0,1 ^{Aa_b}	1,2 ± 0,0 ^{Db_b}	168,0 ± 11,3 ^{Ba_b}				
	%	27	3	12	6	1	51				
A-200/3	HF	76,4 ± 5,0* ^{Ca_b}	6,3 ± 0,3* ^{CDb_b}	40,3 ± 2,2 ^{CDa_a}	8,0 ± 0,4* ^{CDb_b}	4,1 ± 0,2* ^{Bb_a}	158,2 ± 6,0* ^{A_b}	406,1	354,0 ± 19,0 ^{ABCa_a}	3,7	760,1
	HS	9,7 ± 0,1 ^{Cb_b}	11,3 ± 0,5 ^{Ba_b}	47,2 ± 2,0 ^{Aa_a}	19,1 ± 0,6 ^{Aa_b}	2,3 ± 0,1 ^{Ba_b}	248,0 ± 10,4 ^{Aa_a}				
	%	19	3	11	5	1	61				
A-200/6	HF	79,8 ± 3,6* ^{Ca_b}	4,9 ± 0,2* ^{Db_b}	35,0 ± 0,9* ^{Da_a}	7,3 ± 0,2* ^{Db_b}	4,4 ± 0,3* ^{Ba_b}	124,0 ± 9,2 ^{Cb_b}	288,2	355,6 ± 15,5 ^{ABa_a}	2,0	643,8
	HS	8,9 ± 0,1 ^{CDa_b}	11,1 ± 0,8 ^{Ba_b}	44,3 ± 2,4 ^{Aa_a}	20,0 ± 0,5 ^{Aa_b}	-	128,6 ± 7,8 ^{Ca_b}				
	%	28	4	15	7	1	45				
A-400/1	HF	88,2 ± 3,1* ^{BCb_b}	13,4 ± 0,6* ^{Ba_a}	46,2 ± 0,9 ^{ABCa_a}	12,1 ± 0,3* ^{Ba_a}	4,5 ± 0,1* ^{Ba_a}	128,3 ± 5,0* ^{BC}	329,9	221,3 ± 8,4 ^{Db_b}	2,4	551,2
	HS	7,8 ± 0,4 ^{Db_b}	10,1 ± 0,7 ^{Bb_b}	40,5 ± 2,0 ^{Aa_a}	18,7 ± 0,2 ^{Aa_b}	1,6 ± 0,0 ^{Cb_b}	158,9 ± 6,0 ^{Bb_b}				
	%	27	4	14	6	1	48				

Tabla 11. (continuación) Composición del RIA de caquis astringentes de maduración V (A, V) (mg/g RIA).

Muestra	Hidrólisis	Azúcares						Total	Lignina Klason	AU:AN	TOTAL
		Glu	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU				
A-400/3	HF	85,7 ± 1,3*BC _b	7,3 ± 0,3*BC _b	44,5 ± 2,6BC _a	8,6 ± 0,0*CD _b	4,1 ± 0,1*B _b	138,4 ± 2,7*BC	333,1	314,7 ± 7,4BC _a	2,7	647,8
	HS	10,0 ± 0,7C _a	10,4 ± 0,5B _b	42,7 ± 1,1A _a	18,4 ± 0,4A _b	-	170,0 ± 2,6B _a				
	%	26	3	13	6	1	51				
A-400/6	HF	96,7 ± 4,4*B _b	8,3 ± 0,7BC _b	48,2 ± 2,8AB _a	9,7 ± 0,1*C _b	4,4 ± 0,0*B _a	145,0 ± 1,8*AB	429,0	319,1 ± 9,2BC _b	3,4	748,1
	HS	11,9 ± 0,6B _b	10,7 ± 0,7B _b	52,1 ± 3,9A _a	20,5 ± 0,1A _b	-	244,6 ± 9,1A _a				
	%	23	2	12	5	1	57				

n.d.: no determinado. AN: Gal + Ara. HF: hidrólisis fuerte. HS: hidrólisis suave. **Efecto tratamientos de APH:** diferencias entre tratamientos de APH en muestras con igual maduración (V) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla 12), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla 9) y V, para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. **Diferencias entre hidrólisis fuerte (HF) y suave (HS):** Test-T o U de Mann-Whitney; asterisco (*) cuando la diferencia es significativa.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

niveles de pectina similares al del control (A-C, V) como incrementos del contenido de pectinas. Además se constata que, en general, a igual tratamiento de APH, los niveles significativamente más bajos de AU se encuentran en los caquis de maduración V; tendencia que sólo se invierte cuando se aplican 400 MPa/6 min.

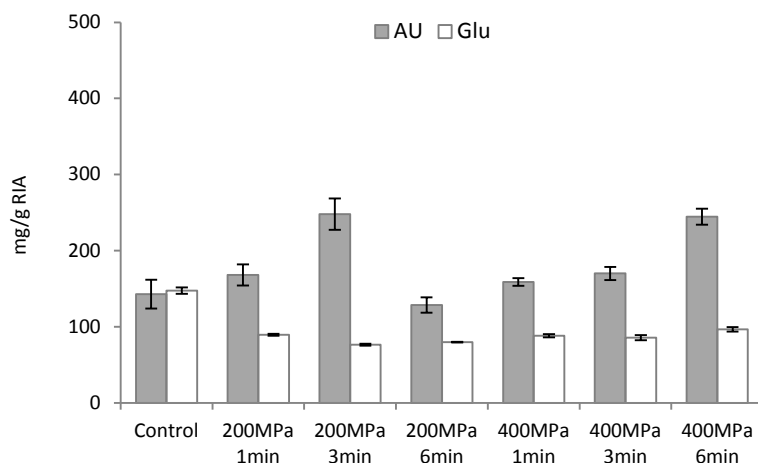


Figura 48. Contenido de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) en caquis astringentes de maduración V tratados con APH.

En relación a la glucosa (Figura 48) se consiguen, en comparación con el control (A-C, V), disminuciones significativas entre el 35-48% al aplicar los tratamientos de APH. Esto indica que las APH provocan degradación y/o solubilización de la matriz celulósica, lo que probablemente justifica los menores niveles de xilosa y arabinosa encontrados en la HF. La duración del tratamiento de APH no influye en los valores de glucosa, tanto en 200 MPa como en 400 MPa. Además, la aplicación de APH a caquis astringentes conlleva mayores pérdidas de glucosa si el estado de maduración es V en lugar de III (efecto maduración en caquis astringentes).

Atendiendo al **perfil de carbohidratos**, los caquis astringentes de maduración V (A, V) con tratamientos de APH presentan diferencias respecto a la composición del caqui control (A-C, V), reflejadas en una mayor presencia de AU (45-61% del total de azúcares), acompañada por menor contribución de glucosa (19-28% del total de azúcares) (Figura 49). Entre los azúcares minoritarios (galactosa, arabinosa, xilosa y manosa), sólo cabe señalar que con los tratamientos de APH la presencia de xilosa desciende, alcanzando sólo el 2% del total de azúcares al aplicar 400 MPa/6 min (Tabla 11).

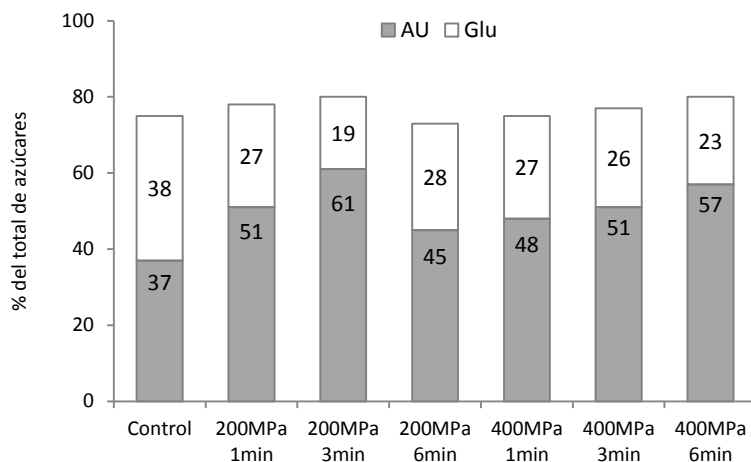


Figura 49. Contribución (%) de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) al contenido total de azúcares del RIA en caquis astringentes de maduración V tratados con APH.

Al comparar el perfil de los caquis astringentes más maduros (A, V) con el de los caquis menos maduros (A, III) (efecto maduración en caquis astringentes) se encuentra (Tablas 9 y 11) que en estos dos tipos de muestras predominan los AU y la glucosa, con porcentajes similares para todos los tratamientos de APH, excepto para 400 MPa/3 y 6 min.

Atendiendo a la **lignina Klason**, en la Tabla 11 se observa que la influencia que las APH ejercen sobre el contenido de esta fracción insoluble depende de la combinación presión/tiempo aplicada, de tal manera que, por ejemplo, los tratamientos 200 MPa/3 min y 400 MPa/3-6 min mantienen el nivel de lignina Klason encontrado en el caqui control (A-C, V) (286 mg/g RIA). Al fijar la presión y comparar tiempos se observa que a 200 MPa no existen diferencias significativas, pero a 400 MPa el nivel de lignina Klason se incrementa significativamente al prolongar el tiempo de exposición a la presión de 1 a 3 min, alcanzando 315 mg/g RIA.

En definitiva, los resultados obtenidos ponen de manifiesto que las diferencias existentes en caquis de maduración V son menos importantes que las constatadas en frutos de maduración III (A, III). En relación a estos resultados, en la Figura 50 se muestra que, tanto en el control (A-C, V) como en los caquis tratados, la fracción de azúcares es minoritaria, y que las APH provocan redistribución de las fracciones que probablemente contienen compuestos de origen fenólico. Con 200 MPa, la contribución de la lignina Klason es mayor que en el control (A-C, V), y con 400 MPa

destaca que la “fracción no analizada” es mayor que la de la lignina Klason, tendencia que se va invirtiendo al incrementar la duración del tratamiento de APH.

Por otra parte, el efecto de la maduración (efecto maduración en caquis astringentes) sobre los valores de lignina Klason sólo se aprecia con los tratamientos de 400 MPa; tratar con 200 MPa los caquis astringentes genera niveles similares de lignina Klason independientemente del estado de maduración de los frutos (Tablas 9 y 11).

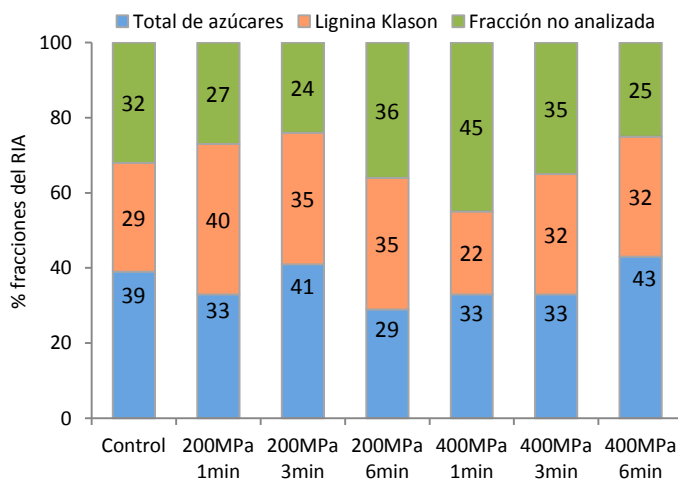


Figura 50. Distribución (%) del RIA en sus distintas fracciones, en caquis astringentes de maduración V tratados con APH.

En resumen, la aplicación de APH a caquis astringentes de maduración V provoca, respecto al caqui sin tratar (A-C, V), un descenso moderado del contenido total de azúcares que constituyen el RIA, debido principalmente a la degradación y/o solubilización de la matriz celulósica, lo que también queda reflejado en una mayor contribución de AU al total de azúcares del RIA. Sólo al aplicar 200 MPa/3 min y 400 MPa/6 min se incrementa el contenido total de azúcares, consecuencia del aumento que estos tratamientos producen en el nivel de AU. Además, las APH modifican el nivel de lignina Klason dependiendo de la combinación presión/tiempo aplicada.

Atendiendo al efecto de la maduración, se destaca que la pérdida del contenido total de azúcares causada por las APH es menos acusada cuando los frutos están más maduros (V). En relación a la lignina Klason, el factor maduración se deberá tener en cuenta sólo cuando se apliquen tratamientos de 400 MPa.

A la vista de los resultados obtenidos en este bloque de caquis astringentes de maduración V, se pone de manifiesto que las APH enriquecen el RIA probablemente en compuestos de tipo fenólico asociados a la lignina Klason, principalmente al aplicar 200 MPa, mientras que en los caquis astringentes de maduración III las APH aumentan la contribución de la lignina Klason, con independencia de la presión aplicada.

- **Caquis no astringentes de maduración V (NA, V)**

En el estudio realizado para conocer cómo afectan las APH a la composición del RIA de caquis no astringentes de maduración V (NA, V), solamente se utiliza la presión de 200 MPa, al igual que ha quedado descrito en caquis de maduración III (NA, III).

En relación a los **azúcares totales**, en la Figura 41b se observa que al aplicar 200 MPa/1 min el contenido es de 299 mg/g RIA, igual al contenido de la muestra control (NA-C, V), mientras que a tiempos superiores este valor disminuye (15%). Si se comparan entre sí estas muestras no astringentes de maduración V (NA, V) con las muestras astringentes de igual grado de maduración (A, V) (efecto eliminación astringencia en V), en la Figura 41b se observa que los caquis no astringentes tienen los contenidos más bajos de azúcares totales. Además, atendiendo al grado de maduración de los caquis no astringentes (efecto maduración en caquis NA), en las Figuras 41a y 41b se observa que para igual tratamiento de APH los caquis más maduros (NA, V) exhiben los contenidos más bajos de azúcares totales. Por lo tanto, se pone de manifiesto que tanto el grado de astringencia (A/NA, V) como el grado de maduración (NA, III/V) condicionan el contenido total de azúcares que tendrán los caquis tras la aplicación de APH; de manera que los caquis no astringentes más maduros (NA, V) son los que muestran el menor nivel de azúcares totales.

Atendiendo a los resultados encontrados en las **hidrólisis HF y HS** (Tabla 12) de las muestras tratadas con APH, se observan tendencias parecidas a las que presenta el control (NA-C, V) en casi todos los azúcares, encontrando que los contenidos de glucosa, xilosa y manosa son significativamente más elevados en la HF. Estos resultados constatan la presencia de celulosa, que estaría unida a polisacáridos que contienen xilosa y manosa, tal y como también ha quedado descrito en las muestras no astringentes de maduración III (NA, III). La galactosa de las muestras tratadas con 200 MPa, en general, sigue la misma pauta que en el control (NA-C, V); los resultados de ambas hidrólisis (HF, HS) son similares, indicando que este azúcar parece estar unido por igual a las matrices celulósica y péctica. Sin embargo, en la muestra tratada con 200

MPa/1 min, el contenido de galactosa es mayor en la HF, lo que indica una mayor asociación a la celulosa. En el caso de la arabinosa, la aplicación de 200 MPa/1 y 3 min muestra niveles similares en ambas hidrólisis. Sin embargo, al prolongar el tratamiento de APH hasta 6 min, se observa un mayor nivel de arabinosa en la HS, lo que indica degradación de polisacáridos pécticos asociados a la celulosa, que se solubilizan en condiciones ácidas suaves (HS); hecho similar al encontrado en el control (NA-C, V).

Por lo tanto, eliminar con CO₂ la astringencia de los caquis de maduración V (A/NA, V) y aplicar APH (200 MPa) (efecto eliminación astringencia en V), tiende a provocar la asociación de galactosa, xilosa y arabinosa a la matriz celulósica. En lo que respecta a la maduración (efecto maduración en caquis NA), en los frutos más maduros (V) parecen establecerse interacciones entre la celulosa y las pectinas con menor tiempo de exposición a la presión.

En relación a los contenidos de **azúcares mayoritarios (AU y Glu)**, se pone de manifiesto (Figura 51) que al aplicar 200 MPa a los caquis no astringentes (NA, V), el contenido de AU disminuye significativamente respecto al caqui control (NA-C, V), alcanzando el valor más bajo (36% de reducción) al aplicar 200 MPa/3 min. Por otra parte, en relación al efecto que tiene eliminar la astringencia en caquis de maduración V (Tablas 11 y 12), así como la influencia del estado de maduración de los caquis no astringentes (Tablas 10 y 12), los resultados obtenidos revelan que, tanto la eliminación de la astringencia como la maduración provocan pérdidas significativas de AU cuando se aplican APH.

En el caso de la glucosa (Figura 51) se observa una disminución significativa de su contenido respecto al control (NA-C, V) sólo al aplicar el tratamiento de 6 min. Atendiendo a los tiempos de tratamiento, se constatan reducciones significativas en los niveles de este azúcar al incrementar el tiempo de exposición a la presión. Por otra parte, los resultados ponen de manifiesto que, en general, la eliminación de la astringencia (en maduración V) no influye en los contenidos de glucosa, mientras que la maduración (de caquis no astringentes) conlleva descensos significativos de este azúcar cuando los frutos se someten a APH, lo que podría indicar degradación de la matriz celulósica.

Tabla 12. Composición del RIA de caquis no astringentes de maduración V (NA, V) (mg/g RIA).

Muestra	Hidrólisis	Azúcares						Total	Lignina Klason	AU:AN	TOTAL
		Glu	Xil	Gal/Ram	Ara	Man	AU				
NA-C	HF	79,7 ± 0,0*B	14,3 ± 0,1*D	23,2 ± 0,4C	14,2 ± 0,2*C	4,0 ± 0,1*C	n.d.	299,2	191,4 ± 3,5A	3,6	490,6
	HS	10,4 ± 0,7B	11,1 ± 0,6A	24,3 ± 0,4A	19,2 ± 0,7A	1,8 ± 0,2B	157,7 ± 9,4A				
	%	27	5	8	6	1	53				
NA-200/1	HF	94,2 ± 0,2*A ^a _b	18,7 ± 0,0*A ^a _b	29,0 ± 0,3*A ^b _b	20,2 ± 0,2A ^a _b	5,4 ± 0,1*B ^a _b	n.d.	298,5	189,0 ± 6,0A ^b _a	2,6	487,5
	HS	14,8 ± 1,1A ^a _a	10,9 ± 0,5A ^a _b	23,6 ± 1,3A ^b _b	20,8 ± 1,2A ^a _b	2,8 ± 0,1A ^a _a	130,4 ± 6,4B ^b _a				
	%	31	6	10	7	2	44				
NA-200/3	HF	81,3 ± 1,3*B ^a _b	17,3 ± 0,2*B ^a _b	26,5 ± 0,0B ^b _b	17,7 ± 0,5B ^a _b	5,8 ± 0,0*A ^a _b	n.d.	253,0	185,8 ± 3,5A ^b _b	2,1	438,8
	HS	14,2 ± 0,6A ^a _a	11,2 ± 0,4A ^a _a	29,3 ± 1,2A ^b _a	18,6 ± 1,5A ^a _b	1,8 ± 0,1B ^a _a	100,7 ± 4,1C ^b _b				
	%	32	7	12	7	2	40				
NA-200/6	HF	73,1 ± 0,1*C ^a _a	16,1 ± 0,2*C ^a _a	18,5 ± 0,0D ^b _b	14,1 ± 0,2*C ^a _b	3,3 ± 0,1*D ^b _b	n.d.	252,9	179,6 ± 3,8A ^b _a	2,8	432,5
	HS	9,6 ± 0,4B ^a _b	8,7 ± 0,1B ^b _b	23,4 ± 2,3A ^b _b	18,7 ± 0,8A ^a _b	1,6 ± 0,1B ^b _b	118,3 ± 1,2BC ^a _b				
	%	29	6	9	8	1	47				

n.d.: no determinado. AN: Gal + Ara. HF: hidrólisis fuerte. HS: hidrólisis suave.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre tratamientos de APH en muestras con igual maduración (V) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla 11) y NA, para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla 10) y V, para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. **Diferencias entre hidrólisis fuerte (HF) y suave (HS):** Test-T o U de Mann-Whitney; asterisco (*) cuando la diferencia es significativa. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

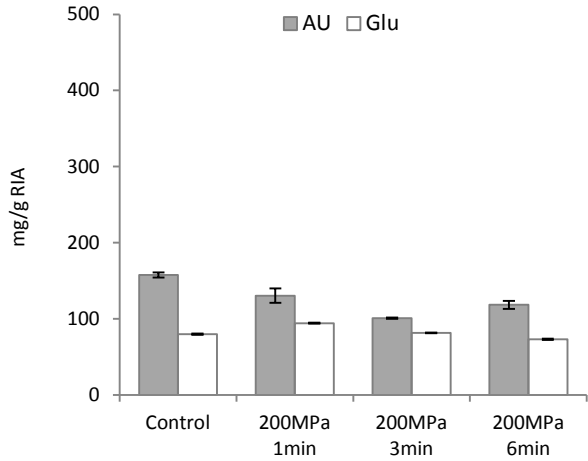


Figura 51. Contenido de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) en caquis no astringentes de maduración V tratados con APH.

El **perfil de azúcares** (Tabla 12 y Figura 52) de las muestras no astringentes (NA, V) sometidas a 200 MPa no presenta variaciones con el control (NA-C, V) ni tampoco entre tratamientos (1, 3 y 6 min), aunque resulta interesante comprobar que en las muestras tratadas los porcentajes de los azúcares mayoritarios, AU (40-47%) y glucosa (29-32%), disminuyen respecto al control (NA-C, V).

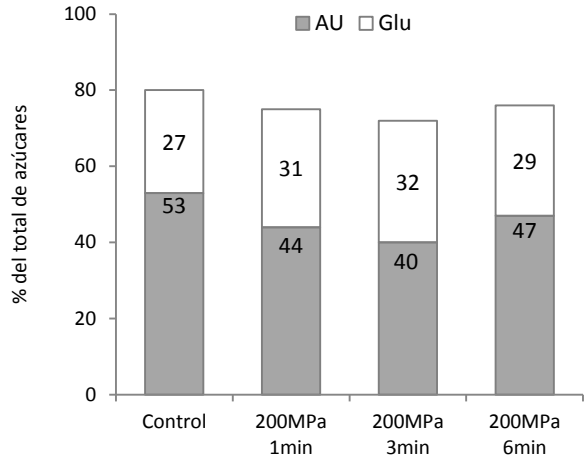


Figura 52. Contribución (%) de ácidos urónicos (AU) y glucosa (Glu) al contenido total de azúcares del RIA en caquis no astringentes de maduración V tratados con APH.

Los efectos de eliminación de la astringencia en maduración V y de la maduración en caquis no astringentes, revelan que en estos tres tipos de caquis (NA, V; A, V; NA, III) predominan los AU y la glucosa, con porcentajes similares en los caquis no astringentes (NA, III/V), pero diferentes en los caquis astringentes (A, V).

En relación a la **lignina Klason** (Tabla 12 y Figura 53), no hay cambios significativos en sus niveles entre las muestras tratadas con APH, ni tampoco entre éstas respecto al control (NA-C, V). Esta similitud de resultados podría confirmar que, tanto durante el propio proceso de maduración como durante el tratamiento de eliminación de la astringencia, la mayoría de los taninos condensados se habrían insolubilizado dentro de la célula (Vázquez-Gutiérrez, 2012a). Así, al aplicar APH sólo habría una pequeña proporción de proantocianidinas solubles con capacidad de salir y precipitar fuera de la célula vegetal, provocando que el nivel de lignina Klason permanezca invariable respecto al control (NA-C, V).

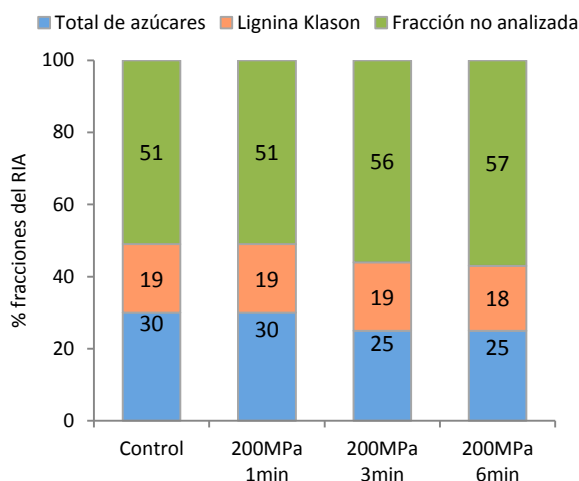


Figura 53. Distribución (%) del RIA en sus distintas fracciones, en caquis no astringentes de maduración V tratados con APH.

Por otro lado, atendiendo al efecto que tiene eliminar la astringencia de los caquis de maduración V, se encuentra que el valor de lignina Klason disminuye significativamente para todos los tratamientos de 200 MPa; este descenso podría deberse a que en los frutos no astringentes (NA, V) el contenido de taninos solubles que estaría disponible para insolubilizarse fuera de la célula sea más bajo que en los caquis astringentes (A, V) (Vázquez-Gutiérrez, 2012a). En relación al efecto de la

maduración en caquis no astringentes se detecta que las APH conllevan un incremento significativo del nivel de lignina Klason para 1 y 6 min.

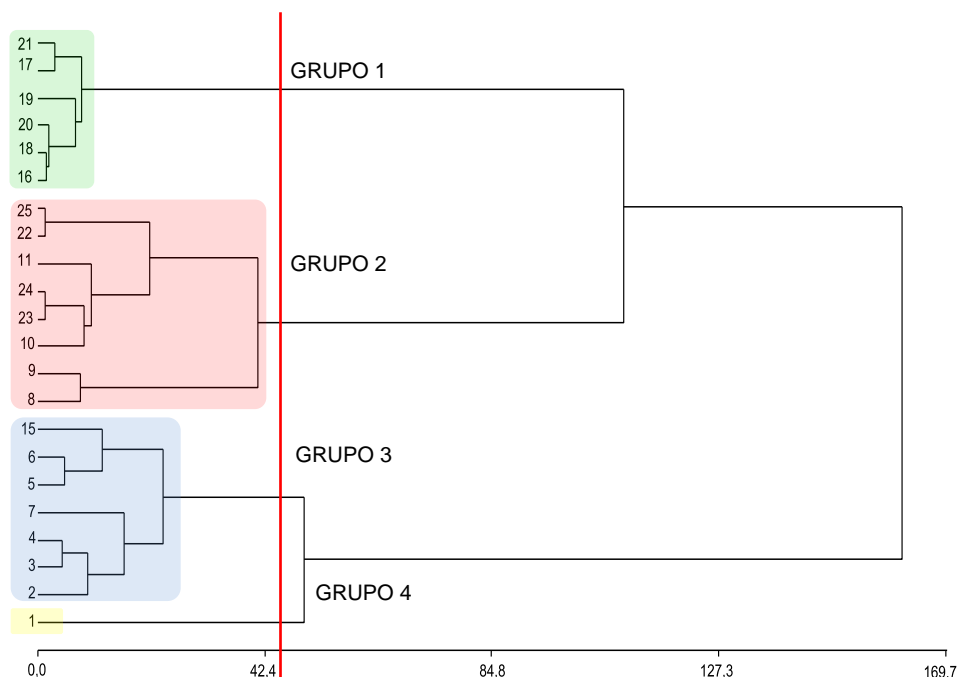
En resumen, la aplicación de APH a caquis no astringentes de maduración V provoca descenso del contenido total de azúcares que constituyen el RIA, debido principalmente a la degradación y/o solubilización de la matriz péctica (AU), aunque con 200 MPa/6 min también se observa una drástica reducción de celulosa (Glu). Los azúcares mayoritarios (AU y Glu) presentan los niveles más bajos cuando el estado de maduración de los caquis es V, tal y como se ha observado en caquis astringentes (A, V). En relación a la lignina Klason, los resultados obtenidos en este tipo de caquis (NA, V) no muestran cambios significativos.

Análisis multivariante conjunto

El análisis multivariante de las 22 muestras, realizado de manera conjunta con los resultados de azúcares neutros (Glu, Xil, Gal, Ara y Man) de las dos hidrólisis (HF, HS), los ácidos urónicos (AU) y la lignina Klason, lleva a establecer cuatro conglomerados (grupos 1, 2, 3 y 4) constituidos por 5, 9, 6 y 2 muestras, respectivamente. En general, a pesar de que el valor de glucosa (HS) es similar en los cuatro grupos, existen importantes diferencias entre los conglomerados (1, 2, 3 y 4) en relación a la glucosa de la HF, el resto de azúcares (Xil, Gal, Ara y Man), los AU y la lignina Klason (Figura 54).

El **grupo 1** está constituido principalmente por caquis **astringentes de maduración V (A, V)**, ya que engloba el **control (A-C, V)**, y los tratamientos **200 MPa/1, 6 min (A, V)** y **400 MPa/3 min (A, III/V)**. En este conglomerado los **contenidos de azúcares** de ambas hidrólisis (HF, HS) son **bajos**, mientras que el **contenido de lignina Klason es alto**, y los **AU tienen un valor relativamente bajo** (50% de reducción respecto al contenido más alto de AU).

El **grupo 2** (mayoritario) engloba las 8 **muestras no astringentes (NA, III/V)**, junto con el tratamiento **400 MPa/1 min (A, V)**. Es el conglomerado con los **valores más bajos** tanto de **lignina Klason** como de AU. Respecto a los **azúcares**, en general en este grupo 2 **los valores son bajos, a excepción del contenido de arabinosa**, que muestra niveles medio y alto en las hidrólisis HS y HF, respectivamente.



Valor medio de las variables en cada grupo							
Conglomerado	Glu	Xil	Gal	Ara	Man	AU	Lignina Klason
Hidrólisis SUAVE							
1	11	14	42	21	2	151	-
2	12	11	31	24	2	129	-
3	12	17	52	25	6	233	-
4	12	23	48	32	5	305	-
Hidrólisis FUERTE							
1	105	12	43	11	5	-	328
2	93	20	33	21	5	-	182
3	117	11	43	11	5	-	358
4	154	23	47	21	8	-	269

Figura 54. Dendrograma conjunto de composición del RIA. Cuatro conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-11]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-25]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado. Estandarización: puntuaciones Z. Según K-medias la muestra 3 está en el grupo 4, la muestra 17 y 21 están en el grupo 3, la muestra 19 está en el grupo 2, y las muestras 6 y 15 están en el grupo 1. La tabla “Valor medio de las variables en cada grupo” recoge estas modificaciones.

El **grupo 3** también comprende muestras **astringentes**, principalmente de **maduración III**. Concretamente, en este conglomerado se clasifican los tratamientos **200 MPa/1 y 6 min (A, III)**, **200 MPa/3 min (A, V)** y **400 MPa/6 min (A, V)**. Es el grupo con el **valor más alto de lignina Klason**, y con un contenido de **AU relativamente alto**. Cabe señalar que, si bien para la HS se detectan resultados relativamente altos de azúcares, destacando que se constata el **nivel más alto de galactosa**, para la HF los valores de azúcares que presenta este grupo 3 se reducen en todos los casos, siendo relevante esta disminución en xilosa y arabinosa. Así que, en lo relativo a los azúcares, en este grupo 3 se agrupan muestras con **valores de azúcares medios-altos en la HS y bajos en la HF**.

En el **grupo 4** (minoritario) se encuentran dos muestras **astringentes de maduración III (A, III)**, correspondientes al **control (A-C, III)** y al tratamiento de **200 MPa/3 min**. Lo más característico de este conglomerado es el **valor alto de todos los azúcares**, no habiendo para un mismo azúcar, grandes diferencias en los resultados de las dos hidrólisis (HF, HS). Además, este grupo contiene el **valor más alto de AU** y un **nivel medio de lignina Klason**.

- **Conclusiones parciales**

La aplicación de APH a caquis de maduración III y V de diferente astringencia provoca comportamientos diferentes. En frutos astringentes se constata pérdida del total de azúcares que constituyen el RIA, menos acusada si los frutos están más maduros (V). Este descenso es debido principalmente a la reducción de los niveles de glucosa en 200 MPa y AU+glucosa en 400 MPa, y va acompañado por el incremento del contenido de lignina Klason.

La aplicación de APH a caquis no astringentes III provoca la respuesta contraria, es decir, incremento del contenido total de azúcares, con aumento generalizado de AU y descenso de Glu. Sin embargo, a medida que el caqui no astringente madura, la aplicación de APH produce degradación y/o solubilización péctica (AU), que en el caso de 200 MPa/6 min también supone reducción del contenido de celulosa (Glu).

Por lo tanto, la eliminación de la astringencia con CO₂ da lugar a modificaciones en la estructura de la pared celular, lo que ocasiona la posible degradación y/o solubilización de polisacáridos pécticos al aplicar tratamientos de APH.

4. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS

Estudiar la actividad de las enzimas pectinmetilesterasa (PME) y poligalacturonasa (PG) resulta interesante porque estas enzimas, además de estar implicadas en procesos fisiológicos como adhesión/separación celular y maduración de los frutos, condicionan los aspectos estructurales relativos a la calidad (pérdida de turbidez en zumos, textura y viscosidad) que tendrán aquellos alimentos elaborados a base de productos vegetales (Jolie y col., 2010).

Los resultados de actividad de las enzimas PME y PG extraídas de los caquis se distribuyen, en cada caso, en cuatro bloques (A, III; NA, III; A, V; NA, V) que se comentan de la siguiente forma: en primer lugar, se establece la actividad enzimática de la muestra control, y se comparan las muestras tratadas con APH frente a su respectivo control, para conocer el efecto que las APH tienen sobre la acción de las enzimas PME y PG. En segundo lugar, se fijan los parámetros de maduración, astringencia y presión para destacar las principales diferencias entre tiempos de tratamiento. A continuación, en los caquis no astringentes (NA, III/V) se estudia el efecto que el tratamiento de eliminación de la astringencia (CO₂) tiene sobre las actividades enzimáticas PME y PG, mientras que en los bloques de maduración V (A/NA, V) se comenta el efecto de la maduración sobre las actividades PME y PG.

Actividad Pectinmetilesterasa (PME)

- **Caquis astringentes de maduración III (A, III)**

El caqui astringente **control** de maduración III (A-C, III) tiene una actividad pectinmetilesterasa (PME) *in vitro* de 4 µmol ácido/min g mf (Figura 55a y Tabla A.17 del Anexo). No obstante, se debe tener en cuenta que el fruto había sido troceado por lo que, probablemente, la actividad PME en el fruto intacto sea inferior. En relación a esta actividad enzimática, resulta interesante comprobar que la capacidad de desesterificación de la enzima PME puede cambiar dependiendo de la materia prima; así, el nivel obtenido para el caqui se asemeja al constatado por De Roeck y col. (2008) en zanahoria (3 µmol ácido/min g mf), pero es entre 10 y 100 veces mayor que el de fresas (Figuroa y col., 2010) y ciruelas (Nunes y col., 2008), respectivamente. Según queda reflejado en la bibliografía (Denès y col., 2000; Barnavon y col., 2001; Ali y col., 2004; Gwanpua y col., 2014), frutas como guayabas, uvas y manzanas también tienen actividades PME menores que las constatadas en el caqui (A-C, III). Sin embargo, la actividad PME obtenida para el caqui astringente de maduración III es menor que la

que muestran algunos estudios previos llevados a cabo en tomate (Ali y col., 2004; Verlent y col., 2007; Van Linden y col., 2008), donde se indica que la actividad media de la PME durante la vida útil del tomate alcanza 50 $\mu\text{mol ácido/min g mf}$.

Cuando estos caquis astringentes se tratan con **altas presiones hidrostáticas**, la actividad PME se incrementa significativamente, alcanzando actividades entre 5-12 veces superiores a la del control (A-C, III) (Figura 55a y Tabla A.17 del Anexo). Así, se observa que la PME aumenta principalmente al aplicar 200 MPa, consiguiendo la mayor actividad con 200 MPa/3 min (51 $\mu\text{mol ácido/min g mf}$). Este resultado confirma que la PME es una enzima resistente a las altas presiones, tal y como señalan estudios previos (Ly-Nguyen y col., 2002; Sila y col., 2008). Este aumento observado en la actividad enzimática al aplicar APH podría deberse a que: (a) el tejido se degrada, permitiendo que la PME se libere y entre en contacto con el sustrato (Vázquez-Gutiérrez y col., 2011; Bodelón y col., 2013), (b) el incremento de presión conlleva reducción de volumen (Sila y col., 2008; Jolie y col., 2012), (c) existe menos presencia de taninos solubles capaces de inhibir la actividad de la enzima (Jolie y col., 2010; Vázquez-Gutiérrez, 2012a), y/o (d) el pH del fruto aumenta (Alonso y col., 1997; Jolie y col., 2010; Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b).

Estudios realizados aplicando tratamientos similares de APH (200-600 MPa/20-30°C) a otros frutos revelan que en tomate (Verlent y col., 2007) las APH incrementan significativamente la actividad PME, corroborando así nuestros resultados. Sin embargo, tratamientos de APH aplicados a fresa (Bodelón y col., 2013) y manzana (Perera y col., 2010) no modifican significativamente la actividad PME en comparación con sus respectivos controles. En este sentido, hay que tener en cuenta que el tomate es un fruto climatérico cuya firmeza se empieza a modificar de manera drástica desde que se recolecta (Goulao y Oliveira, 2008), al igual que ocurre en el caqui. Sin embargo, la fresa y la manzana podrían mostrar comportamientos distintos a los observados en el caqui porque la fresa es un fruto no climatérico (Draye y Van Cutsem, 2008) y la manzana, tras su recolección, sólo experimenta cambios moderados de firmeza (Gwanpua y col., 2014).

A la vista de la bibliografía y de los resultados obtenidos en este estudio, si los tratamientos de APH se aplicaran a altas temperaturas (45-80°C) es probable que parte de la actividad PME se inactive, como reflejan estudios realizados en tomate (Crelie y col., 2001), fresa (Bodelón y col., 2013) y zanahoria (De Roeck y col., 2008).

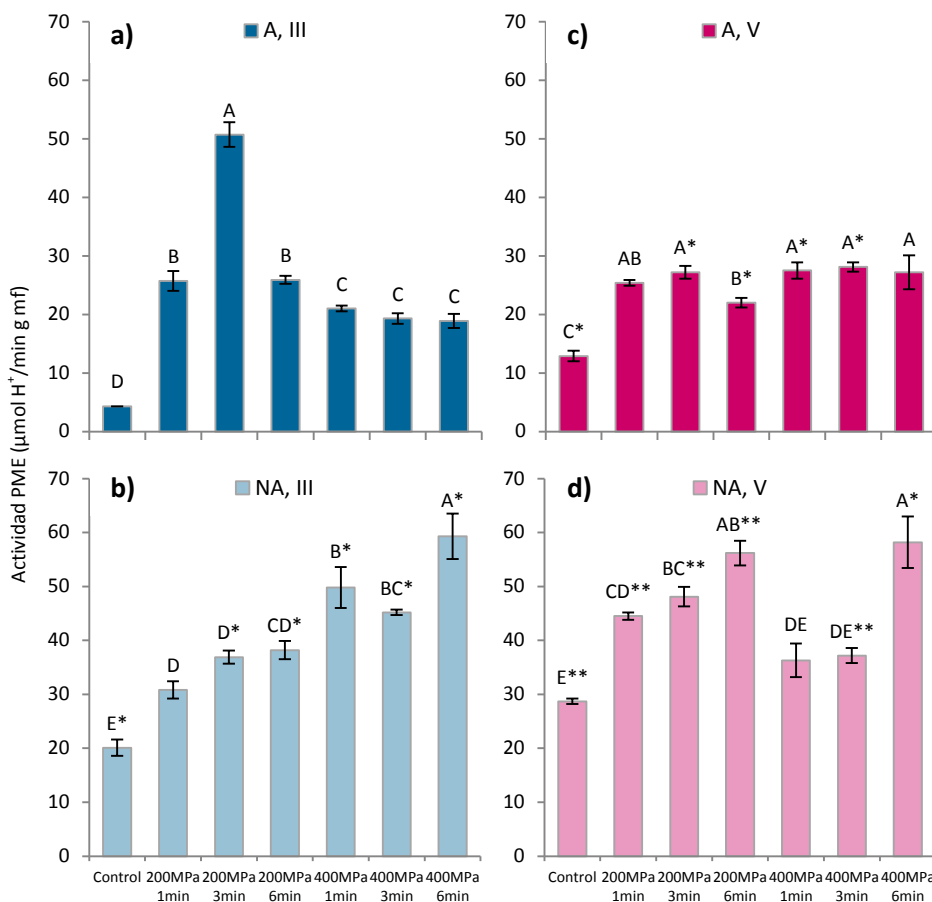


Figura 55. Actividad de la enzima PME en caquis: (a) astringentes de maduración III, (b) no astringentes de maduración III, (c) astringentes de maduración V y (d) no astringentes de maduración V.

a), b), c) y d): Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III ó V) y astringencia (A ó NA); mayúscula.

b) y d): Efecto eliminación de la astringencia: diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V) y tratamiento de APH; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

c) y d): Efecto maduración: diferencias entre III y V, para igual astringencia (A ó NA) y tratamiento de APH; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

En cualquier caso, los tratamientos de APH estudiados en caqui tienen un efecto contrario al que parecen provocar los tratamientos térmicos ($>70^{\circ}\text{C}$) a presión atmosférica, con los que, según la bibliografía, suelen conseguirse inactivaciones de la enzima PME (Alonso y col., 1997; Denès y col., 2000; Anthon y Barrett, 2010).

- **Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)**

La Figura 55b (Tabla A.18 del Anexo) muestra que en el caqui no astringente **control** de maduración III (NA-C, III) la actividad PME alcanza $20\ \mu\text{mol}\ \text{ácido}/\text{min}\ \text{g}\ \text{mf}$, valor similar al cuantificado por Ali y col. (2004) en mangos maduros. Esta actividad enzimática constatada en el caqui no astringente (NA-C, III) es 5 veces superior a la encontrada en el caqui astringente (A-C, III), por lo que eliminar la astringencia mediante el tratamiento de CO_2 incrementa significativamente la actividad PME en caquis de maduración III. Salvador y col. (2007) también cuantificaron la actividad PME en caqui “*Rojito Brillante*” no astringente de maduración III, pero la actividad enzimática que encontraron sólo fue de $9\ \mu\text{mol}\ \text{ácido}/\text{min}\ \text{g}\ \text{mf}$. Dicha diferencia parece deberse a que los frutos han sido troceados de distinta forma. Asimismo, Luo (2006) cuantificó un menor valor de actividad en caqui no astringente ($6\ \mu\text{mol}\ \text{ácido}/\text{min}\ \text{g}\ \text{mf}$), si bien en este caso la diferencia podría deberse a que utilizó una variedad de caqui distinta y a que eliminó la astringencia con etileno en lugar de con CO_2 .

Estudios previos llevados a cabo por otros grupos de investigación revelan resultados que pueden ser clave para explicar por qué, en muestras control, la actividad PME en el caqui no astringente es mayor que en el caqui astringente (A/NA-C, III). Así, la reacción de desesterificación enzimática podría incrementarse porque, según se ha puesto de manifiesto, al eliminar la astringencia mediante el tratamiento de CO_2 se consigue: (a) mayor degradación del tejido (Vázquez-Gutiérrez y col., 2011), (b) insolubilización de taninos que pueden estar inhibiendo a la enzima PME (Vázquez-Gutiérrez, 2012a), y/o (c) aumento del pH (Alonso y col., 1997; Salvador y col., 2007; Vázquez-Gutiérrez y col., 2012b). El hecho de que los tejidos dañados tienen mayor actividad PME fue constatado por Van Linden y col. (2008) en tomates de estado de maduración avanzado.

En estos caquis no astringentes de maduración III, la actividad de la enzima PME se ve favorecida cuando los frutos se someten a **altas presiones hidrostáticas**, siendo la presión de 400 MPa la que genera los incrementos significativos más notables respecto

al control (NA-C, III), tal y como se pone de manifiesto en la Figura 55b (Tabla A.18 del Anexo). La mayor actividad PME encontrada al aplicar 400 MPa en lugar de 200 MPa se corresponde con la mayor degradación del tejido y menor contenido de proantocianidinas solubles constatados por Vázquez-Gutiérrez (2012a) en caquis sometidos a 400 MPa.

En relación a la astringencia, cuando estas muestras no astringentes tratadas con APH (NA, III) se comparan con sus correspondientes muestras astringentes (A, III) (**efecto eliminación de la astringencia en maduración III**), se constata que, en general, los caquis no astringentes son los que presentan la mayor actividad PME (Figuras 55a y 55b; Tablas A.17 y A.18 del Anexo); los caquis astringentes muestran una actividad PME mayor sólo cuando se aplican 200 MPa/3 min. En este sentido, resulta interesante destacar que las mayores diferencias entre muestras de distinta astringencia se detectan al aplicar los tratamientos de 400 MPa.

- **Caquis astringentes de maduración V (A, V)**

Aunque durante la maduración de los frutos se han descrito cambios contradictorios en relación a la PME (Barnavon y col., 2001), es habitual que esta enzima incremente su actividad con el avance de la maduración hasta alcanzar el máximo del pico climatérico, y después disminuya gradualmente (Nunes y col., 2008).

En el caqui astringente **control** de maduración V (A-C, V) la actividad PME es de 13 $\mu\text{mol ácido/min g mf}$ (Figura 55c y Tabla A.19 del Anexo), valor más elevado que el que suelen presentar otras frutas (Barnavon y col., 2001; Nunes y col., 2008; Figueroa y col., 2010; Gwanpua y col., 2014). Esta actividad enzimática cuantificada en el caqui de maduración V (A-C, V) es 3 veces mayor que la obtenida en el caqui de maduración III (A-C, III), lo que muestra que la maduración de caquis astringentes facilita la acción de la PME. Alonso y col. (1997), así como de Souza y col. (2011) también constataron que la actividad PME se incrementa durante el avance de la maduración del caqui. Asimismo, estudios realizados en tomate, guayaba, papaya (Abu-Goukh y Bashir, 2003; Ali y col., 2004) y manzana (Wei y col., 2010) han puesto de manifiesto tendencias similares. Sin embargo, en la bibliografía también se encuentran resultados contrarios, ya que en frutos climatéricos como el mango (Ali y col., 2004), así como en frutos no climatéricos como la uva (Barnavon y col., 2001), la actividad PME va disminuyendo con el avance de la maduración. En relación a estos resultados, algunos de los trabajos que comparan muestras control de distinta maduración indican que el aumento de la

actividad enzimática PME ocurre hasta que se alcanza el máximo del pico climatérico, momento a partir del cual la enzima PME parece perder su capacidad de desesterificar pectinas (Alonso y col., 1997; Abu-Goukh y Bashir, 2003; de Souza y col., 2011).

Cuando se aplican **altas presiones hidrostáticas** a estos caquis astringentes de maduración V se obtienen, respecto al control (A-C, V), actividades PME significativamente más elevadas, encontrando valores similares independientemente de los factores de presión y tiempo (Figura 55c y Tabla A.19 del Anexo). Esta tendencia es distinta a la detectada por otros autores al aplicar APH a frutas (Crelie y col., 2001; Polydera y col., 2004; Perera y col., 2010; Bodelón y col., 2013).

Por otra parte, atendiendo al grado de maduración de los caquis tratados con APH (A, III/V) (**efecto maduración en caquis astringentes**), los resultados ponen de manifiesto que los caquis más maduros (A, V) muestran menor actividad PME cuando se les aplican 200 MPa (Figuras 55a y 55c; Tablas A.17 y A.19 del Anexo).

- **Caquis no astringentes de maduración V (NA, V)**

La actividad *in vitro* de la enzima PME del caqui no astringente **control** de maduración V (NA-C, V) es de 29 $\mu\text{mol ácido/min g mf}$. Aunque este valor es similar al que Ali y col. (2004) detectaron en papayas maduras, frutos como los tomates tienen actividades PME más elevadas, tal como se recoge en la bibliografía (Van linden y col., 2008). La actividad enzimática de este caqui no astringente es significativamente mayor que la encontrada al analizar tanto el caqui astringente (A-C, V) (13 $\mu\text{mol ácido/min g mf}$) como el caqui de maduración III (NA-C, III) (20 $\mu\text{mol ácido/min g mf}$), tal y como se muestra en la Figura 55 (Tabla A.20 del Anexo). Por lo tanto, al igual que ocurre en los caquis astringentes, la maduración de los caquis no astringentes incrementa la actividad PME, tal y como ocurre en otras frutas (Abu-Goukh y Bashir, 2003; Ali y col., 2004; Wei y col., 2010). También cabe señalar que en el estudio realizado por Salvador y col. (2007) en caquis de igual variedad, maduración y astringencia, la actividad de la enzima PME sólo fue de 7 $\mu\text{mol ácido/min g mf}$; esta diferencia podría deberse a que los frutos fueron troceados de distinta forma.

Por lo tanto, la eliminación de la astringencia de caquis de maduración V (A/NA-C, V), así como la maduración de caquis no astringentes (NA-C, III/V) ocasionan incrementos significativos en la actividad PME, confirmando así las tendencias encontradas en caquis de maduración III (A/NA-C, III) y caquis astringentes (A-C, III/V), respectivamente.

Al aplicar **altas presiones hidrostáticas** al caqui no astringente y comparar los resultados con la actividad PME del control (NA-C, V), se pone de manifiesto que todos los tratamientos de 200 MPa, así como el de 400 MPa/6 min, facilitan la actividad de la enzima PME, llegando a alcanzar 57 μmol ácido/min g mf (99% de incremento) cuando la duración del tratamiento es de 6 min (Figura 55d y Tabla A.20 del Anexo). Asimismo, resulta interesante indicar que a 200 y 400 MPa los perfiles de actividad PME son similares, aunque con actividades más altas a 200 MPa/1-3 min que a 400 MPa/1-3 min.

Por otra parte, en la Figura 55d (Tablas A.19 y A.20 del Anexo) queda reflejado que, cuando los caquis no astringentes tratados con APH (NA, V) se comparan con sus respectivos caquis astringentes (A, V) (**efecto eliminación de la astringencia en maduración V**), las muestras no astringentes son las que proporcionan la mayor actividad PME, tal y como sucedía en el estado de maduración III para casi todos los tratamientos de APH. En este sentido, resulta interesante mostrar que, con el avance de la maduración, las mayores diferencias entre caquis de distinta astringencia se consiguen al aplicar la presión más baja; es decir, en maduración III son necesarios tratamientos de 400 MPa, mientras que en maduración V los tratamientos de 200 MPa son los que originan las mayores diferencias.

Finalmente, atendiendo a cómo influye el grado de maduración de los frutos en los tratamientos de APH (**efecto maduración en caquis no astringentes**), en la Figura 55d (Tablas A.18 y A.20 del Anexo) se muestra que con 200 MPa los caquis más maduros (NA, V) presentan la mayor actividad PME. En cambio, al aplicar 400 MPa los caquis menos maduros (NA, III) son los que exhiben la actividad PME más alta.

En definitiva, en este apartado se ha puesto de manifiesto que las APH aumentan la actividad de la enzima PME en caquis astringentes y no astringentes de maduración III y V. También se ha constatado que tanto la eliminación de la astringencia como la maduración favorecen la acción de la PME, encontrando que las diferencias entre frutos de distinta astringencia siempre son más relevantes que las diferencias existentes entre frutos de distinta maduración. Además, los resultados indican que al comparar caquis astringentes frente a no astringentes y caquis de maduración III frente a V, las mayores actividades PME se encuentran en los caquis no astringentes y, en general, en los caquis de maduración V.

Actividad Poligalacturonasa (PG)

- **Caquis astringentes de maduración III (A, III)**

La enzima poligalacturonasa (PG) extraída del caqui astringente **control** de maduración III (A-C, III) tiene una actividad de 25 nmol AGA/min g mf (Figura 56a y Tabla A.17 del Anexo), valor similar al encontrado por otros autores en manzana Fuji (Wei y col., 2010) y zanahoria (Mierczynska y col., 2015). Esta actividad enzimática es 20 y 36 veces mayor que en ciruelas (Nunes y col., 2008) y fresas (Figueroa y col., 2010), respectivamente. La manzana de variedad Golden también presenta una actividad PG (10 nmol AGA/min g mf) inferior a la constatada en el caqui astringente (A-C, III), tal como muestran Wei y col. (2010). Por el contrario, en la bibliografía (Ali y col., 2004) se pone de manifiesto que la guayaba, el mango y la papaya tienen, tanto en frutos verdes (84-96 nmol AGA/min g mf) como maduros (132-378 nmol AGA/min g mf), actividades PG más elevadas que el caqui (A-C, III). Asimismo, el tomate presenta enzimas PG con una capacidad de despolimerización mayor que el caqui, ya que estudios realizados en tomate (Ali y col., 2004; Verlent y col., 2005, 2007; Van Linden y col., 2008) muestran que en este fruto pueden encontrarse valores comprendidos entre 80 y 1000 nmol AGA/min g mf.

Por otra parte, los resultados obtenidos ponen de manifiesto que cuando estos caquis (A, III) se someten a **altas presiones hidrostáticas** y se comparan con el control (A-C, III), la actividad enzimática se incrementa significativamente con los tratamientos 200 MPa/1 y 3 min, pero no muestra variaciones destacables al aplicar tratamientos más intensos (Figura 56a y Tabla A.17 del Anexo). Según se pone de manifiesto en el bibliografía (Verlent y col., 2007), la aplicación de 200 MPa a tomates también provoca incrementos de la actividad PG respecto al control. Sin embargo, a diferencia de lo que ocurre en los caquis (A, III), someter a los tomates a tratamientos de 400 MPa genera reducciones de la capacidad que la enzima PG tiene para despolimerizar pectinas (Crelier y col., 2001; Rodrigo y col., 2006; Verlent y col., 2007).

En estos caquis astringentes de maduración III existe correlación significativa directa entre las actividades enzimáticas PG y PME (Figura A.6 del Anexo).

- **Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)**

En relación a la aplicación del tratamiento con CO₂ para eliminar la astringencia del caqui **control** de maduración III (A-C, III), se muestra (Figuras 56a y 56b; Tablas A.17

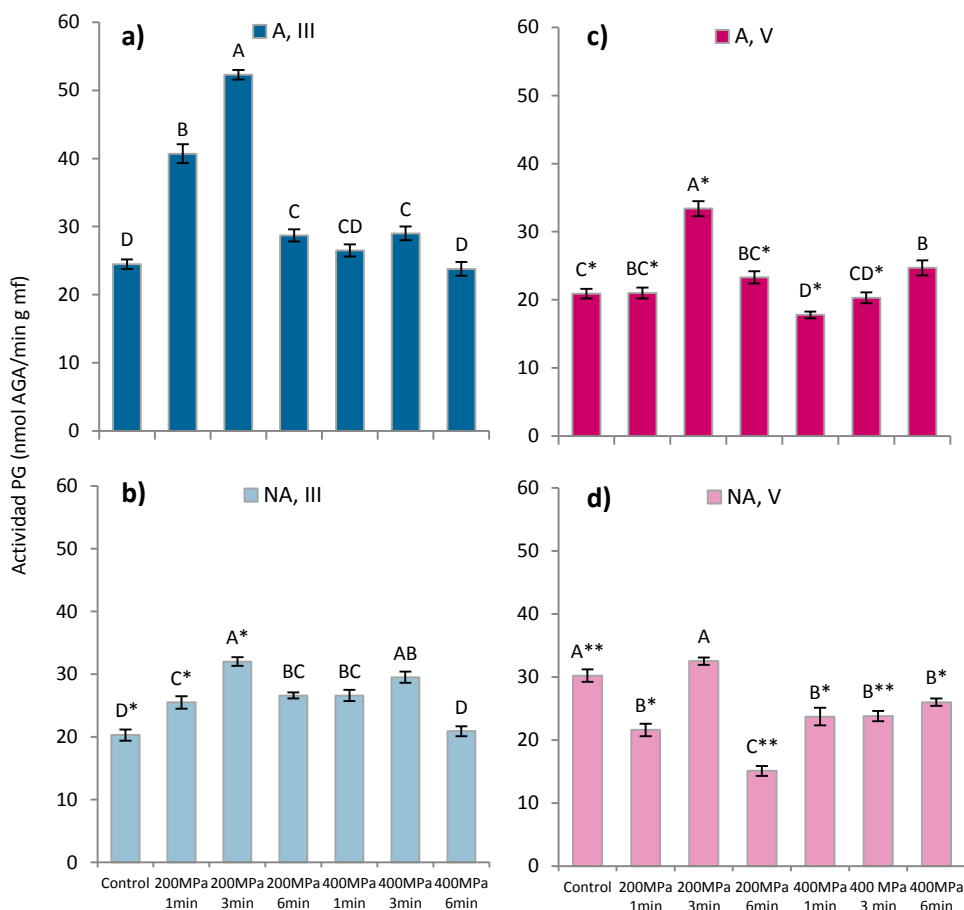


Figura 56. Actividad de la enzima PG en caquis: (a) astringentes de maduración III, (b) no astringentes de maduración III, (c) astringentes de maduración V y (d) no astringentes de maduración V.

a), b), c) y d): Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III ó V) y astringencia (A ó NA); mayúscula.

b) y d): Efecto eliminación de la astringencia: diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V) y tratamiento de APH; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

c) y d): Efecto maduración: diferencias entre III y V, para igual astringencia (A ó NA) y tratamiento de APH; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

y A.18 del Anexo) que la actividad de la enzima PG se reduce en un 20%, pues se obtienen 20 nmol AGA/min g mf, tendencia contraria a la constatada en la actividad PME. La actividad PG encontrada por Luo (2006, 2007) en caquis no astringentes fue similar a la cuantificada en este estudio. En comparación con otras frutas, el caqui no astringente (NA-C, III) exhibe, al igual que el caqui astringente (A-C, III), una actividad enzimática más elevada que las ciruelas, fresas y manzanas Golden (Nunes y col., 2008; Figueroa y col., 2010; Wei y col., 2010), pero más baja que la que presentan algunas frutas tropicales (Ali y col., 2004).

También se constata que casi todos los tratamientos de **altas presiones hidrostáticas** aplicados a caquis no astringentes de maduración III (NA, III) provocan aumentos estadísticamente significativos de la actividad PG respecto al control (NA-C, III), alcanzando la máxima actividad cuando la duración del tratamiento de APH es de 3 min (32 nmol AGA/min g mf, valor medio). Esta tendencia es similar a la que Verlent y col. (2007) constataron en tomates cuando los frutos se sometieron a tratamientos de 200 MPa. Tal y como se observa en la Figura 56b (Tabla A.18 del Anexo), en general, en los caquis no astringentes (NA, III) se obtiene un perfil similar al observado en los caquis astringentes (A, III); incremento de la actividad hasta aplicar 200 MPa/3 min, seguido de reducción/estabilización al prolongar el tiempo o aumentar la presión del tratamiento y, finalmente, descenso de la actividad PG hasta igualar el nivel del control (NA-C, III), cuando los caquis se someten a 400 MPa/6 min.

En este sentido, sólo cabe destacar que la diferencia entre los perfiles de caquis astringentes y no astringentes reside en que en estos últimos (NA, III) los incrementos y reducciones no son tan acusados.

Por otra parte, cuando los caquis no astringentes tratados con APH (NA, III) se comparan con sus respectivos caquis astringentes (A, III) (**efecto eliminación de la astringencia en maduración III**), se pone de manifiesto que el grado de astringencia es un factor a tener en cuenta sólo si se aplican 200 MPa/1 y 3 min, ya que tras la aplicación de estos tratamientos, la actividad PG es significativamente menor en los caquis no astringentes. Con el resto de tratamientos la capacidad de despolimerización de la enzima PG es similar, tanto en caquis astringentes como no astringentes, tal y como se muestra en la Figura 56b (Tablas A.17 y A.18 del Anexo).

- **Caquis astringentes de maduración V (A, V)**

La actividad PG del caqui astringente **control** de maduración V (A-C, V) es de 21 nmol AGA/min g mf (Figura 56c y Tabla A.19 del Anexo), lo que representa un descenso significativo del 15% respecto a la actividad del caqui de maduración III (A-C, III), poniendo de manifiesto que la maduración de caquis astringentes reduce la actividad PG. Por el contrario, en estudios previos llevados a cabo por otros autores queda reflejado que en las frutas la enzima PG suele activarse con el avance de la maduración (Abu-Goukh y Bashir, 2003; Ali y col., 2004; Van Linden y col., 2008; Figueroa y col., 2010; Wei y col., 2010; de Souza y col., 2011). Al igual que en los caquis de maduración III (A/NA-C, III), la actividad PG detectada en el caqui astringente de maduración V (A-C, V) es notablemente mayor que la cuantificada por otros autores en ciruelas y fresas (Nunes y col., 2008; Figueroa y col., 2010), pero menor que la que presentan frutas tropicales como mangos, guayabas y papayas (Ali y col., 2004).

Al tratar con **altas presiones hidrostáticas** los caquis astringentes de maduración V, en general, se obtienen actividades PG similares a la observada en el control (A-C, V), si bien algunos tratamientos de APH provocan cambios significativos, destacando que el mayor incremento de actividad se detecta al aplicar 200 MPa/3 min (33 nmol AGA/min g mf), tal y como se refleja en la Figura 56c (Tabla A.19 del Anexo). En relación a las actividades PG obtenidas en estos caquis astringentes (A, V), también cabe indicar que existe correlación significativa directa con el contenido de FS (Figura A.8 del Anexo).

Por otra parte, en relación a la influencia que tiene el grado de maduración de los caquis astringentes (A, III/V) en los tratamientos de APH (**efecto maduración en caquis astringentes**), los resultados revelan que la tendencia encontrada entre los controles (A-C, III/V) prevalece incluso cuando se aplican APH; es decir, a igual tratamiento de APH los caquis de maduración V muestran menor actividad PG que los caquis de maduración III. Esta tendencia es válida para todas las combinaciones presión/tiempo estudiadas, excepto para 400 MPa/6 min, ya que este tratamiento proporciona actividades PG similares, independientemente del estado de maduración.

- **Caquis no astringentes de maduración V (NA, V)**

En el caqui no astringente **control** de maduración V (NA-C, V) la actividad PG *in vitro* es de 30 nmol AGA/min g mf (Figura 56d y Tabla A.20 del Anexo). Aunque, entre los

cuatro controles de este estudio éste es el valor más elevado, los tomates y algunas frutas tropicales siguen destacando por tener actividades PG mayores que las que muestra el caqui “*Rajo Brillante*”, tal como se comprueba en la bibliografía (Ali y col., 2004; Verlent y col., 2005, 2007; Van Linden y col., 2008). La actividad PG detectada en el caqui no astringente (NA-C, V) también revela que la eliminación de la astringencia provoca un aumento significativo (45%) de la actividad PG respecto al valor del caqui astringente (A-C, V) (21 nmol AGA/min g mf), tal y como se recoge en las Figuras 56c y 56d (Tablas A.19 y A.20 del Anexo). Asimismo, la maduración (Figuras 56b y 56d; Tablas A.18 y A.20 del Anexo) conlleva un aumento significativo (49%) de esta actividad enzimática, respecto a la actividad cuantificada en el caqui de maduración III (NA-C, III) (20 nmol AGA/min g mf), corroborando así los resultados de la bibliografía (Abu-Goukh y Bashir, 2003; Ali y col., 2004; Van Linden y col., 2008; Figueroa y col., 2010; Wei y col., 2010; de Souza y col., 2011). Sin embargo, Salvador y col. (2007) no constataron variaciones significativas de actividad PG durante la maduración de los caquis. Por lo tanto, el efecto de la eliminación de la astringencia y la maduración son contrarios a los constatados entre caquis de maduración III (A/NA-C, III) y caquis astringentes (A-C, III/V), respectivamente.

En la Figura 56d (Tabla A.20 del Anexo) también se muestra que al aplicar **altas presiones hidrostáticas** se detectan respecto al control (NA-C, V) reducciones significativas de la actividad PG, con todos los tratamientos excepto con 200 MPa/3 min, ya que esta combinación presión/tiempo mantiene la actividad PG encontrada en el control (NA-C, V). La máxima reducción se alcanza al tratar los caquis con 200 MPa/6 min (15 nmol AGA/min g mf). Por lo tanto, el efecto que las APH ejercen en los caquis no astringentes más maduros (NA, V) es equivalente al que provoca la aplicación de presiones entre 300-500 MPa a tomates, tal como se observa en la bibliografía (Crelier y col., 2001; Rodrigo y col., 2006; Verlent y col., 2007). Además, cabe señalar que al igual que ocurre en los caquis astringentes (A, V) existe correlación significativa directa entre la actividad PG y el contenido de FS (Figura A.9 del Anexo).

Por otra parte, cuando estas muestras no astringentes tratadas con APH (NA, V) se comparan con las correspondientes muestras astringentes (A, V) (**efecto eliminación de la astringencia en maduración V**), destaca que al aplicar 400 MPa existe, en general, cierta tendencia a que la actividad PG de los caquis no astringentes sea más elevada que la de los caquis astringentes (Figuras 56c y 56d; Tablas A.19 y A.20 del Anexo).

En relación al grado de maduración de los caquis tratados con APH (NA, III/V) (**efecto maduración en caquis no astringentes**), no se constata una tendencia clara, ya que para cada tratamiento de APH la comparación de los caquis de distinta maduración muestra distintos efectos (Figuras 56b y 56d; Tablas A.18 y A.20 del Anexo).

En resumen, al aplicar APH la actividad PG sólo aumenta en caquis de maduración III, principalmente en frutos astringentes tratados con 200 MPa. Sin embargo, en los caquis astringentes de maduración V, en general las APH no modifican la actividad PG, y en los caquis no astringentes se constatan reducciones de actividad enzimática. Es interesante destacar que la eliminación de la astringencia de las muestras control y en muestras tratadas con 200 MPa reduce la actividad PG en maduración III, pero aumenta ésta cuando el estado de maduración es V en el control. Además, la maduración de los frutos control y muestras tratadas reduce la actividad PG en caquis astringentes, mientras que sólo aumenta en caquis no astringentes control.

Análisis multivariante

- **Dendrograma PME**

El dendrograma obtenido a partir de las actividades PME *in vitro* (Figura 57) pone de manifiesto que las 28 muestras de caqui estudiadas pueden clasificarse en cuatro conglomerados (grupos 1, 2, 3 y 4), constituidos por 8, 4, 14 y 2 muestras cada uno, y con actividades enzimáticas de 52, 37, 25 y 9 $\mu\text{mol ácido/min g mf}$, respectivamente.

El grupo 1 (actividad PME alta) contiene principalmente **caquis no astringentes** de maduración III y V tratados con 400 y 200 MPa, respectivamente. De este grupo 1 también es destacable la presencia de los caquis astringentes de maduración III tratados con 200 MPa/3 min. Asimismo, el grupo 2 (actividad PME intermedia alta) engloba a los caquis no astringentes tratados con APH (200 MPa/3-6 min, III; 400 MPa/1-3 min, V).

Por el contrario, los conglomerados con menor actividad PME (grupos 3 y 4) tienden a agrupar mayoritariamente **caquis astringentes**. En concreto, el grupo 3 (actividad PME intermedia baja) reúne, con independencia del estado de maduración, a todos los caquis astringentes tratados con APH, excepto a aquellos de maduración III sometidos a 200 MPa/3 min, que como ya se ha comentado, están en el grupo 1. Finalmente, el grupo 4 (actividad PME baja) contiene los caquis astringentes control (A-C, III/V), ya

que la actividad enzimática en estos frutos sólo supone alrededor del 36% de la actividad detectada en los caquis de igual maduración y astringencia, pero que han sido sometidos a APH.

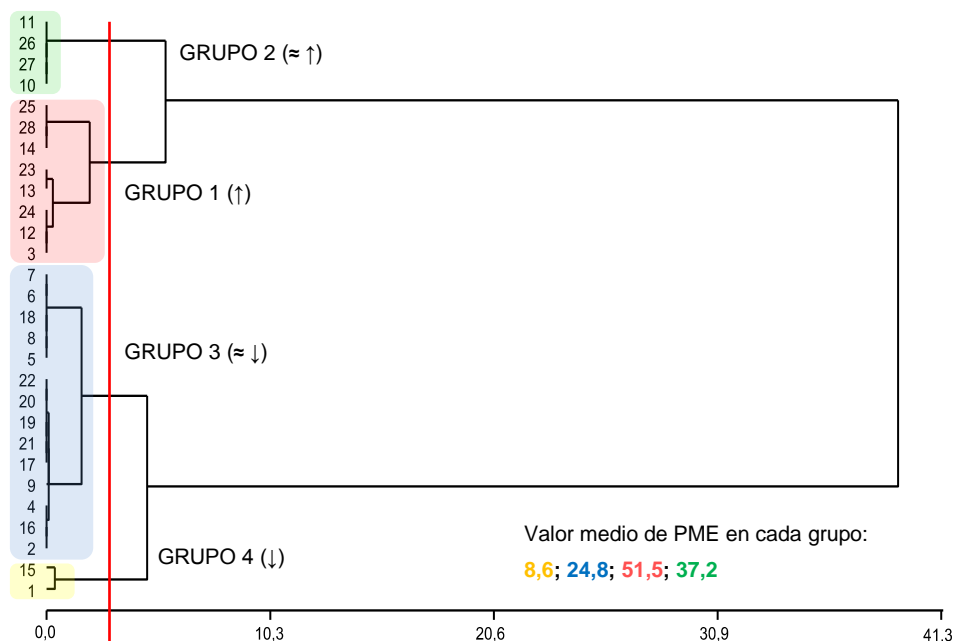


Figura 57. Dendrograma para actividad PME. Cuatro conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

Por lo tanto, las actividades PME más altas se cuantifican en caquis no astringentes y las más bajas en caquis astringentes. Además, se muestra que, con independencia del factor astringencia, la aplicación de APH incrementa la actividad PME respecto a los controles correspondientes.

• Dendrograma PG

Las muestras pueden clasificarse en tres conglomerados (grupos 1, 2 y 3), constituidos por 2, 7 y 19 muestras, y con actividades PG de 46, 31 y 23 nmol AGA/min g mf, respectivamente (Figura 58).

El grupo 1 (actividad PG alta) sólo contiene **caquis astringentes** de maduración III tratados con 200 MPa/1 y 3 min. En cambio, el grupo 2 (actividad PG intermedia) y el grupo 3 (actividad PG baja) engloban **caquis astringentes** y **caquis no astringentes**.

En el grupo 2, predominan los tratamientos de APH de 3 min, y se observa que si los caquis tienen maduración III, tanto 200 como 400 MPa proporcionan actividades PG intermedias, mientras que si los caquis tienen maduración V, sólo las muestras tratadas con 200 MPa se encuentran en este grupo. Cabe señalar que, entre las muestras control, sólo el caqui no astringente de maduración V (NA-C, V) pertenece al grupo 2. Por último, en el grupo 3 se encuentran los tratamientos de APH de 1 y 6 min, aplicados mayoritariamente a caquis de maduración V, junto a los controles astringentes (A-C, III/V) y al control no astringente de maduración III (NA-C, III).

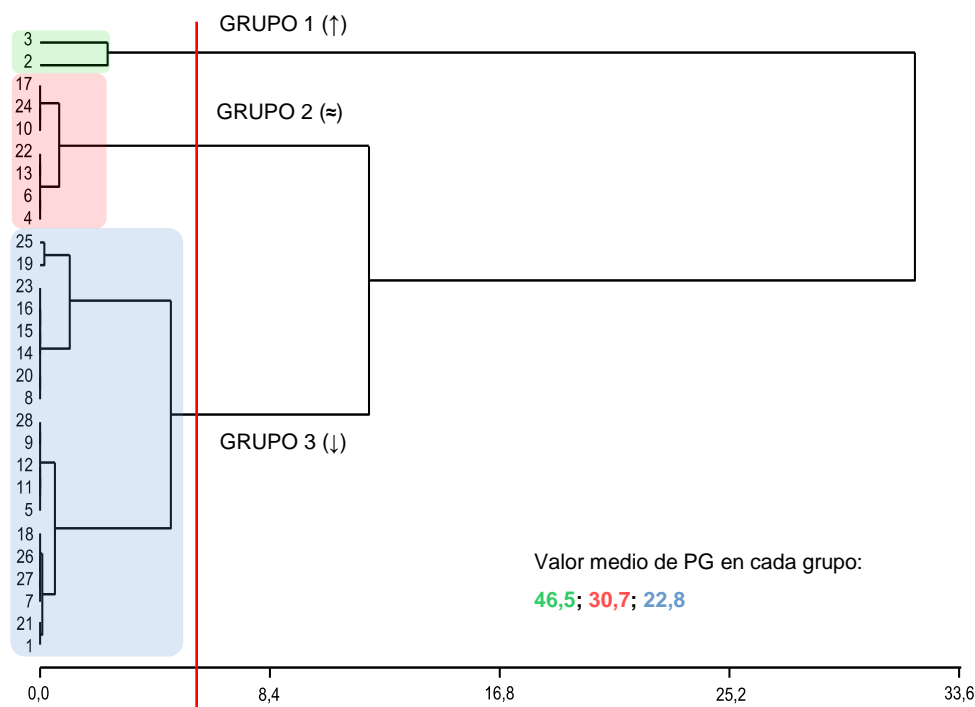
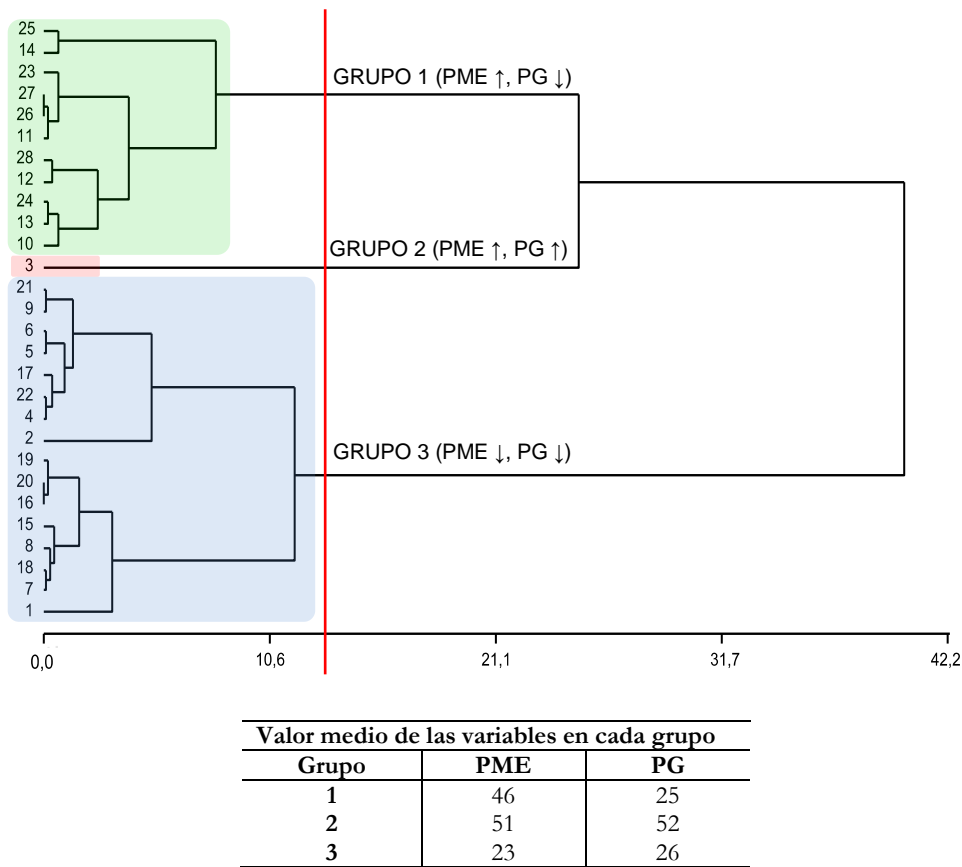


Figura 58. Dendrograma para actividad PG. Tres conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

Por lo tanto, el dendrograma obtenido a partir de los resultados de actividad de la enzima PG pone de manifiesto que las muestras que presentan las actividades PG más bajas son los controles (excepto el NA-C, V), los caquis de maduración V tratados con APH y los caquis de maduración III con tratamientos de APH de 1 y 6 min, quedando en este último caso la presión restringida a 400 MPa si los caquis son astringentes.

• Dendrograma conjunto

El análisis multivariante realizado de forma conjunta con los resultados de actividad de las enzimas PME y PG permite distribuir las 28 muestras estudiadas en tres conglomerados (grupos 1, 2 y 3), con 11, 1 y 16 muestras, respectivamente (Figura 59).



Nota: cada enzima está expresada en sus unidades correspondientes.

Figura 59. Dendrograma conjunto de enzimas PME y PG. Tres conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado. Estandarización: puntuaciones Z.

El **grupo 1** tiene **actividades PME y PG alta y baja**, respectivamente, ya que en este conglomerado sólo se agrupan los **caquis no astringentes**, independientemente de su estado de maduración y tratamiento de APH. El **grupo 2** tiene **valores altos de**

actividad PME y PG, correspondientes a los **caquis astringentes** de maduración III tratados con **200 MPa/3 min.** Por último, el **grupo 3** (mayoritario) se caracteriza por tener **actividades enzimáticas PME y PG relativamente bajas**, y engloba a todas las **muestras control** y, entre las muestras tratadas con APH, predominan los **caquis astringentes**, con independencia de su estado de maduración y del tratamiento de APH al que han sido sometidos.

Por lo tanto, la información que se desprende de los dendrogramas permite seleccionar las muestras más adecuadas para los fines que se deseen, así las muestras con PME alta y PG baja (grupo 1) serán adecuadas para mantener la firmeza del fruto, mientras que muestras con actividad PME baja (grupo 3) serán utilizadas para incorporar estos frutos en elaboraciones trituradas, purés, zumos,...

Conclusiones parciales

Las APH aumentan la actividad de la enzima PME en caquis astringentes y no astringentes de maduración III y V. Tanto la eliminación de la astringencia como la maduración favorecen la acción de la PME, encontrando que las diferencias entre frutos de distinta astringencia siempre son más relevantes. En conjunto, las mayores actividades PME se encuentran en los caquis no astringentes.

En cambio, la actividad PG sólo aumenta en caquis de maduración III, principalmente en los frutos astringentes tratados con 200 MPa. En caquis de maduración V, en general las APH no modifican la actividad PG, y sólo en los caquis no astringentes se constatan reducciones de dicha actividad enzimática. Por su parte, la eliminación de la astringencia con CO₂ provoca, en caquis de maduración III, reducciones de la actividad PG en la muestra control, y es un factor a tener en cuenta si se aplican 200 MPa, ya que tras la aplicación de esta presión los caquis no astringentes son los que tienen menor actividad PG. Sin embargo, en caquis de maduración V, esta actividad enzimática experimenta incrementos en el control. La maduración de los frutos control, así como la aplicación de APH a los caquis más maduros, produce descensos de la actividad PG en caquis astringentes.

5. GRADO DE METILESTERIFICACIÓN

El grado de metilesterificación (GM) es el factor principal que determina la funcionalidad de las pectinas, ya que puede afectar a sus propiedades de hidratación y de solubilización, condicionando así su capacidad de formar geles (Brummell, 2006). Inicialmente, las pectinas se sintetizan con grados de metilesterificación altos (Carpita y McCann, 2000), que van disminuyendo principalmente debido a la acción de la pectinmetilesterasa (PME) (Willats y col., 2001). El descenso del GM, además de mejorar la textura de los tejidos, cambia la sensibilidad de la pectina a la despolimerización, tanto química como enzimática; así, cuando la pectina tiene un GM bajo, la reacción de β -eliminación (degradación no enzimática) no está favorecida. Sin embargo, es más probable que la poligalacturonasa (PG) despolimerice la pectina, dando lugar a la pérdida de firmeza de la muestra (Ali y col., 2004).

La discusión de los resultados se lleva a cabo con una pauta similar a la que se ha seguido en el apartado 4 (Actividades enzimáticas).

• **Caquis astringentes de maduración III (A, III)**

En el caqui astringente **control** de maduración III (A-C, III) el grado de metilesterificación es 34% (34 mol MeOH/100 mol AGA), lo que indica que alrededor de un tercio de los polisacáridos pécticos están metilesterificados (Figura 60a). Este valor de GM es similar al encontrado en ciruelas (38%) (Nunes y col., 2008) y zanahorias (36%) (Galindo y col., 2004), pero más bajo que el constatado en otras frutas como kiwis (50%) y manzanas (85%) (Femenia y col., 2009; Gwanpua y col., 2014). No obstante, cabe señalar que probablemente el caqui intacto, sin trocear, muestre un GM significativamente más elevado, tal como constataron Anthon y Barrett (2010) en un estudio realizado en tomates, donde el GM se reducía de 60 a 34% al trocear el fruto.

Al tratar los caquis astringentes de maduración III con **altas presiones hidrostáticas** y comparar los resultados del GM respecto al control (A-C, III) (Figura 60a), se observan comportamientos diferentes dependiendo de la presión aplicada. Cuando la presión es de 200 MPa, el GM disminuye significativamente, alcanzando valores entre 18-28%, mientras que si la presión aplicada es de 400 MPa no se constatan cambios significativos en el GM, lo que indica que las pectinas de estos caquis tratados con APH presentan un grado de metilesterificación (32-37%) similar al del caqui control (34%).

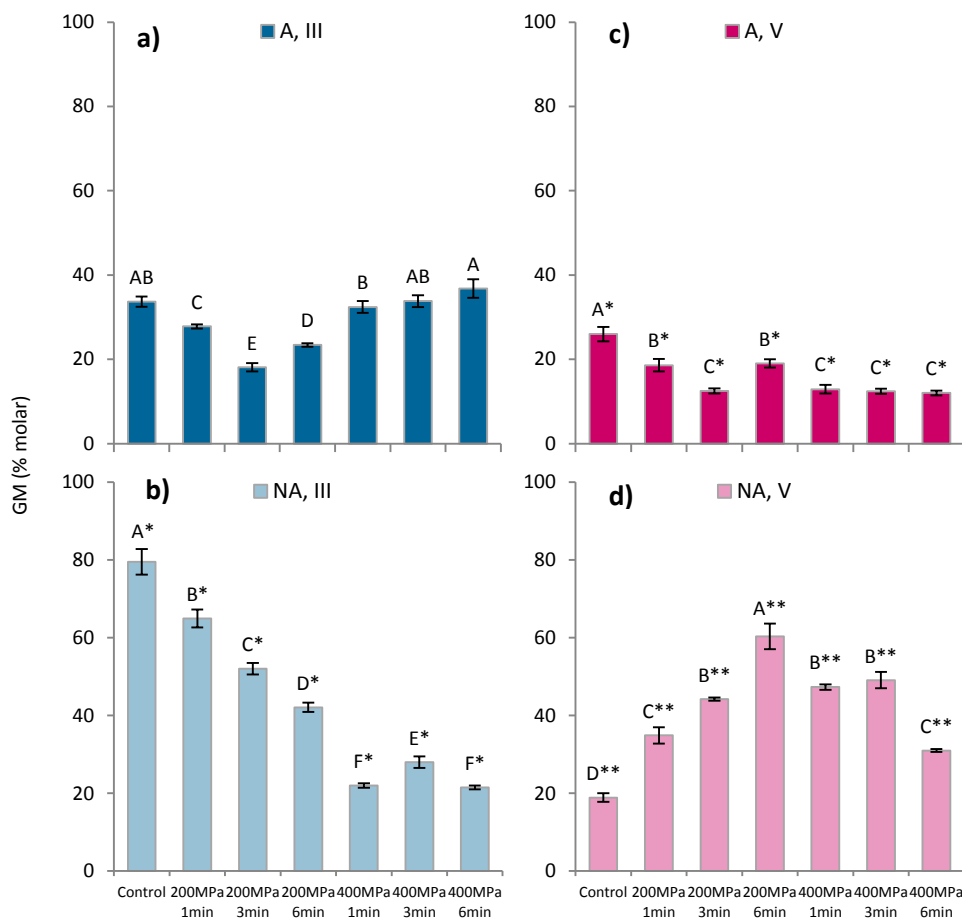


Figura 60. Grado de metilesterificación (GM) en caquis: (a) astringentes de maduración III, (b) no astringentes de maduración III, (c) astringentes de maduración V y (d) no astringentes de maduración V.

a), b), c) y d): Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III ó V) y astringencia (A ó NA); mayúscula.

b) y d): Efecto eliminación de la astringencia: diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V) y tratamiento de APH; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

c) y d): Efecto maduración: diferencias entre III y V, para igual astringencia (A ó NA) y tratamiento de APH; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

A la vista de los resultados obtenidos, se observa (Tabla 13) que al someter los caquis a **200 MPa** el GM es significativamente menor que el valor del control (A-C, III), debido a que el contenido de metanol esterificado disminuye y el nivel de pectinas (contenido en AGA) es similar. El menor contenido de metanol parece corroborar que el tratamiento de APH facilita la acción de la PME (Figura 55), y los niveles similares de pectinas indican que no existe solubilización, lo que podría ser debido a que a pesar de haber cuantificado un incremento de actividad PG *in vitro* al aplicar APH (Figura 56), la enzima PG no aumenta su actividad *in vivo*, o no está implicada en el proceso de solubilización de las pectinas. De este modo, si bien en el apartado 4 (Figura 56) se ha puesto de manifiesto que, en comparación con el control, la actividad PG aumenta al aplicar 200 MPa, se debe tener en cuenta que la capacidad de actuar que presenta esta enzima podría ser mayor *in vitro* que *in vivo* (en el fruto), probablemente porque el acceso de la enzima al sustrato estaría restringido, tal y como revelan Nunes y col. (2008) en un estudio realizado en ciruelas.

Tabla 13. GM, metanol esterificado y contenido de AGA en caquis astringentes de maduración III.

Muestra	GM	Metanol esterificado	AGA
A-C	33,7 ± 1,2AB ^b _a	16,6 ± 0,6A ^a _a	299,5 ± 18,9AB ^a _a
A-200/1	27,8 ± 0,5C ^b _a	11,8 ± 0,2B ^b _a	257,5 ± 13,9B ^a _a
A-200/3	18,1 ± 1,0E ^b _a	9,3 ± 0,5CD ^b _a	311,4 ± 20,7A ^a _a
A-200/6	23,4 ± 0,4D ^b _a	10,6 ± 0,2BC ^a _a	273,9 ± 10,0AB ^a _a
A-400/1	32,4 ± 1,4B ^a _a	10,3 ± 0,4BC ^a _a	193,1 ± 5,1C ^a _a
A-400/3	33,8 ± 1,4AB ^a _a	8,2 ± 0,3D ^a _a	146,5 ± 8,7D ^a _a
A-400/6	36,8 ± 2,2A ^a _a	10,9 ± 0,7B ^a _a	179,7 ± 10,4CD ^a _b

GM: % molar (mol MeOH/100 mol AGA). Metanol esterificado: mg/g RIA. AGA de las pectinas: mg/g RIA. **Efecto tratamientos de APH:** diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (A); ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan); mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla 14), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla 15), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Sin embargo, las muestras tratadas con **400 MPa** y el control (A-C, III) tienen GM similares, ya que no sólo el contenido de metanol esterificado sino también el nivel de

pectinas (contenido de AGA) disminuye significativamente al aplicar APH (Tabla 13). El nivel de metanol se reduciría por mayor actividad de la PME, tal como muestran Anthon y Barrett (2010) y como ha quedado reflejado en el apartado anterior (Figura 55), mientras que el contenido de AGA es menor en los caquis tratados con 400 MPa que en el control debido posiblemente a la degradación y/o solubilización de pectinas. La solubilización de los polisacáridos pécticos probablemente no sólo se deba a la acción de la PG (apartado 4), sino también a la hidrólisis ácida llevada a cabo para su determinación, tal y como señalan Anthon y Barrett (2010) para explicar la pérdida de pectinas encontrada en tomate troceado y sometido a tratamiento térmico. La β -eliminación no estaría favorecida, ya que en los estudios sobre APH tanto de De Roeck y col. (2009) como de Jolie y col. (2012) se pone de manifiesto que, cuando el GM es inferior a 40%, las pectinas no sufren dicha reacción química.

En relación a los valores de GM obtenidos en estos caquis astringentes de maduración III, cabe señalar que se constata una correlación significativa inversa con las actividades enzimáticas PME y PG (Figura A.6 del Anexo).

Cuando se fija la presión y se cambia la duración del tratamiento de APH, los resultados (Figura 60a) muestran que a 200 MPa prolongar el tiempo del tratamiento reduce significativamente el GM, alcanzando con 3 min el valor más bajo (18%). Sin embargo, a presiones mayores (400 MPa) se detectan incrementos significativos del GM al aumentar la duración del tratamiento de APH, obteniendo un 14% de incremento entre 1 y 6 min.

Además, se observa que el contenido de metanol esterificado es similar tras aplicar 200 y 400 MPa (10 mg/g RIA, valor medio) (Tabla 13) lo que revela que, si la actividad de la PME *in vivo* fuera independiente de la presión, las pectinas que se degradan al aplicar 400 MPa serían de bajo metoxilo, corroborando así el estudio realizado por Femenia y col. (2009) en kiwi. Sin embargo, si la menor actividad PME observada a 400 MPa (Figura 55) reflejara la desesterificación de las pectinas en el caqui, los contenidos similares de metanol esterificado confirmarían degradación de pectinas de alto metoxilo.

- **Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)**

En el caqui no astringente **control** de maduración III (NA-C, III) el grado de metilesterificación es 80% (80 mol MeOH/100 mol AGA), valor similar al que cuantificaron Fraeye y col. (2009) en fresas, Gwanpua y col. (2014) en manzanas, y

Mierczynska y col. (2015) en zanahorias. Este GM supone un incremento significativo respecto al GM del caqui astringente (A-C, III) (34%) (Figuras 60a y 60b). Por lo tanto, la eliminación de la astringencia con CO₂ proporciona caquis con pectinas de alto metoxilo (GM > 50%).

Estos resultados obtenidos en las muestras control (A/NA-C, III) ponen de manifiesto que, al eliminar la astringencia, el GM se incrementa de manera drástica principalmente porque el contenido de AGA se reduce significativamente (Tablas 13 y 14). Esta reducción del contenido de AGA podría ser debida a degradación y/o solubilización de pectinas; sin embargo, teniendo en cuenta que en las muestras no astringentes sometidas a APH los resultados de AGA son mayores que en el control (NA-C, III), parece más razonable proponer que, con independencia de que exista solubilización debida a la enzima PG (apartado 4 de este capítulo), tras el tratamiento con CO₂ parte de las pectinas podrían quedar insolubilizadas o atrapadas en la matriz celulósica (apartado 3), y no se detectan porque la hidrólisis realizada es suave.

Tabla 14. GM, metanol esterificado y contenido de AGA en caquis no astringentes de maduración III.

Muestra	GM	Metanol esterificado	AGA
NA-C	79,5 ± 3,3A _a	9,5 ± 0,4CD _b _a	72,1 ± 3,4D _b _b
NA-200/1	64,9 ± 2,3B _a	14,2 ± 0,5A _a	132,7 ± 9,5C _b _a
NA-200/3	52,0 ± 1,5C _a	12,2 ± 0,3B _a	141,9 ± 0,8C _b _a
NA-200/6	42,1 ± 1,2D _a _b	10,3 ± 0,3C _a	148,3 ± 5,4C _b _a
NA-400/1	22,0 ± 0,6F _b _b	6,9 ± 0,2F _b _b	190,6 ± 5,8B _a
NA-400/3	28,0 ± 1,5E _b _b	8,5 ± 0,4DE _a _b	184,5 ± 16,0B _a
NA-400/6	21,5 ± 0,5F _b _b	8,0 ± 0,2E _b _b	226,9 ± 17,8A _a

GM: % molar (mol MeOH/100 mol AGA). Metanol esterificado: mg/g RIA. AGA de las pectinas: mg/g RIA. **Efecto tratamientos de APH:** diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (NA); ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan); mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla 13) y NA, para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla 16), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

En relación a la aplicación de **altas presiones hidrostáticas** a caquis no astringentes de maduración III, se observan reducciones significativas del GM en comparación con el control (NA-C, III) (80%), más acusadas al tratar con 400 MPa (22-28%) que con 200 MPa (42-65%) (Figura 60b). Los resultados obtenidos tras aplicar 400 MPa parecen mostrar que las pectinas de alto metoxilo conseguidas al eliminar la astringencia, se degradan.

Al aplicar APH al caqui no astringente, el GM de todas las muestras disminuye significativamente respecto al control (NA-C, III), debido mayoritariamente a que los contenidos de pectina (contenidos de AGA) aumentan (Tabla 14); esta relación inversa entre el GM y el contenido de AGA es significativa, tal y como se constata al realizar el análisis de correlación (Figura A.7 del Anexo). Los incrementos en el valor del AGA de los caquis no astringentes sometidos a APH tienen lugar porque las presiones aplicadas parecen conseguir liberar las pectinas que habían quedado no disponibles tras el tratamiento con CO₂, facilitando así su cuantificación al realizar la hidrólisis suave con H₂SO₄. En relación a estos resultados, se debe tener en cuenta que los niveles de AGA obtenidos en todas las muestras no astringentes (Tabla 14) son menores que el nivel del caqui astringente control de maduración III (300 mg AGA/g RIA), muestra a tener en cuenta como referencia (Tabla 13). También cabe señalar que, al comparar entre sí los contenidos de metanol esterificado de ambas presiones, el menor contenido de metanol observado al aplicar 400 MPa se puede deber a que las muestras sometidas a esta presión tienen mayor actividad PME (Figura 55).

Por otro lado, la comparación entre tiempos de tratamiento muestra que a 200 MPa el aumento de la duración del tratamiento provoca descensos significativos del GM. Sin embargo, a 400 MPa el factor tiempo no parece ser tan decisivo, ya que se obtienen valores similares a 1 y 6 min (22%) y un aumento significativo del GM a 3 min (28%). En general, se constata que el GM disminuye significativamente al aumentar la intensidad del tratamiento (más presión y tiempo).

Para un mismo tratamiento de APH, la comparación de caquis de maduración III y distinta astringencia (A/NA, III) (**efecto eliminación de la astringencia en maduración III**) muestra que, tras aplicar cualquiera de los tratamientos de 200 MPa, los caquis no astringentes tienen el GM significativamente más elevado. Por el contrario, si los frutos se tratan con 400 MPa, son los caquis astringentes los que tienen el mayor GM. Al aplicar 200 MPa, los frutos no astringentes tienen los GM más elevados principalmente porque el nivel de pectinas (contenido de AGA) es menor

(Tablas 13 y 14). En lo que respecta a la presión de 400 MPa, el GM de los frutos desciende significativamente puesto que los contenidos de AGA son similares en caquis astringentes y no astringentes y, en general, el metanol esterificado disminuye, probablemente por mayor actividad PME (Figura 55).

- **Caquis astringentes de maduración V (A, V)**

En el caqui astringente **control** de maduración V (A-C, V) el grado de metilesterificación es 26% (26 mol MeOH/100 mol AGA), valor más bajo que el detectado en frutas y hortalizas por otros autores (Galindo y col., 2004; Renard y Ginies, 2009; Hyodo y col., 2013; Gwanpua y col., 2014; Mierczynska y col., 2015). Asimismo, este GM es significativamente menor que el obtenido en el caqui de maduración III (A-C, III) (34%) (Figuras 60a y 60c), lo que indica que la maduración de caquis astringentes conlleva pérdida de esterificación en las pectinas. Resultados similares también se encontraron en uva (Barnavon y col., 2001) y en tomate (Van Linden y col., 2008) durante su maduración, así como en estudios realizados en kiwi (Femenia y col., 2009), donde se constató que los frutos poco maduros presentan un GM del 59%, mientras que los más maduros muestran valores inferiores de GM (39%), corroborando así los resultados obtenidos en este estudio.

El menor GM del caqui astringente control de maduración V frente al caqui control de maduración III (A-C, III) es debido a que el contenido de metanol esterificado disminuye, probablemente por acción de la PME (Figura 55) y a que el nivel de pectinas (contenido de AGA) también se reduce (Tablas 13 y 15). Este menor contenido de AGA refleja que durante la maduración se produce solubilización que, si bien podría ser consecuencia de la acción de la enzima PG, tal y como ponen de manifiesto Jolie y col. (2012), a la vista de las actividades PG obtenidas (Figura 56) parece que en los caquis de maduración V la solubilización química tiene más importancia que la enzimática. No obstante, esta solubilización de pectinas también podría ser debida al aumento constatado en la actividad PME, lo que confirmaría las observaciones de Alonso y col. (1997).

Cuando se aplican **altas presiones hidrostáticas** a estos caquis astringentes de maduración V se generan, respecto al control (26%), reducciones significativas del GM, ya que los valores del GM se sitúan entre 12-19% (Figura 60c), y se constata que el GM parece ser independiente de la duración del tratamiento de APH, tanto a 200 como 400 MPa. El GM disminuye significativamente respecto al valor del control (A-

C, V) porque el contenido de metanol esterificado se reduce y el nivel de pectinas (contenido de AGA) es similar o significativamente más elevado (Tabla 15). La pérdida de metanol esterificado aquí también puede justificarse por mayor actividad de la PME (Figura 55), mientras que los contenidos de AGA ponen de manifiesto que, independientemente de la degradación y/o solubilización que puedan sufrir las pectinas, podría existir oxidación de glucosa a ácido glucurónico y posterior cuantificación como AGA (Önal y col., 2004; Jaeger y col., 2010).

Tabla 15. GM, metanol esterificado y contenido de AGA en caquis astringentes de maduración V.

Muestra	GM	Metanol esterificado	AGA
A-C	26,0 ± 1,7A ^a _b	6,1 ± 0,4A ^a _b	143,0 ± 7,9BC ^a _b
A-200/1	18,6 ± 1,5B ^b _b	5,1 ± 0,4B ^b _b	168,0 ± 11,3B ^a _b
A-200/3	12,5 ± 0,6C ^b _b	5,1 ± 0,3B ^b _b	248,0 ± 10,4A ^a _a
A-200/6	19,0 ± 1,0B ^b _b	4,0 ± 0,2CD ^b _b	128,6 ± 7,8C ^a _b
A-400/1	12,9 ± 1,0C ^b _b	3,4 ± 0,3D ^b _b	158,9 ± 6,0B ^a _b
A-400/3	12,4 ± 0,6C ^b _b	3,5 ± 0,2D ^b _b	170,0 ± 2,6B ^a _a
A-400/6	12,0 ± 0,6C ^b _b	4,9 ± 0,3BC ^b _b	244,6 ± 9,1A ^a _a

GM: % molar (mol MeOH/100 mol AGA). Metanol esterificado: mg/g RIA. AGA de las pectinas: mg/g RIA. **Efecto tratamientos de APH:** diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (A); ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan); mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla 16), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla 13) y V, para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

En relación a la influencia que el grado de maduración de los caquis astringentes (A, III/V) tiene en los tratamientos de APH (**efecto maduración en caquis astringentes**), se observa que el GM es significativamente menor en los caquis de maduración V (A, V) (Figuras 60a y 60c; Tablas 13 y 15). Los resultados obtenidos parecen demostrar que la pérdida de enlaces éster debida a la maduración prevalece incluso cuando los caquis se someten a APH. Asimismo, se observa que las mayores diferencias entre caquis astringentes de maduración III y V se alcanzan al aplicar 400 MPa, ya que el GM de los caquis astringentes más maduros (A, V) sólo representa una tercera parte del valor del GM de los caquis menos maduros (A, III).

A igual tratamiento de APH, los caquis astringentes de distinta maduración (A, III/V) tienen GM significativamente distintos porque se cuantifican contenidos diferentes de metanol esterificado y porque, en general, los contenidos de AGA también son distintos (Tablas 13 y 15). Como se viene constatando en todos los casos en los que el GM disminuye, dichas reducciones siempre van acompañadas de niveles de metanol esterificado significativamente menores. Así, a 400 MPa se corrobora que el menor contenido de metanol esterificado observado en los caquis de maduración V (A, V) en comparación con los caquis de maduración III (A, III) es debido a mayor actividad PME (Figura 55). Sin embargo, a 200 MPa el menor contenido de metanol cuantificado en los caquis (A, V) no parece estar directamente relacionado con la enzima PME.

- **Caquis no astringentes de maduración V (NA, V)**

Finalmente, para concluir este estudio se analiza el grado de metilesterificación en el caqui no astringente **control** de maduración V (NA-C, V) que alcanza sólo 19% (19 mol MeOH/100 mol AGA), valor significativamente más bajo que el GM del caqui astringente (A-C, V) (26%) (Figuras 60c y 60d) y que el GM del caqui de maduración III (NA-C, III) (80%) (Figuras 60b y 60d). Según se pone de manifiesto en la bibliografía (Barnavon y col., 2001; Femenia y col., 2009), en otras frutas el avance de la maduración también provoca la disminución del GM de las pectinas. En concreto, el menor GM del caqui no astringente de maduración V (NA-C, V) frente al caqui de maduración III (NA-C, III) es debido a que el contenido de metanol esterificado disminuye y el nivel de pectinas (contenido de AGA) se incrementa (Tablas 14 y 16). Este mayor nivel de AGA podría deberse a que, si bien el tratamiento con CO₂ podría provocar que las pectinas quedaran atrapadas en la matriz celulósica, tal como parece ocurrir en las muestras no astringentes menos maduras (NA-C, III), el tejido de los caquis de maduración V está más degradado (Vázquez-Gutiérrez y col., 2011), lo que probablemente facilita la liberación de las pectinas durante la hidrólisis suave llevada a cabo para su cuantificación.

Por lo tanto, la eliminación de la astringencia de caquis de maduración V (A/NA-C, V), así como la maduración de caquis no astringentes (NA-C, III/V), parecen provocar descensos significativos del GM de los polisacáridos pécticos, siendo esta reducción más drástica cuando se atiende al efecto de maduración (NA-C, III/V).

Al aplicar **altas presiones hidrostáticas** a estos caquis no astringentes y comparar los resultados respecto al control (NA-C, V) (Figura 60d y Tabla 16) se observa, con independencia de la presión, que los valores obtenidos de GM son significativamente mayores (31-60%) en los caquis tratados con APH, alcanzando el valor más alto (60%) con 200 MPa/6 min. En relación a la influencia que tiene la duración del tratamiento de APH sobre el GM, los resultados ponen de manifiesto que, si la presión es de 200 MPa y se prolonga el tiempo de tratamiento, el GM de las pectinas se incrementa significativamente. No obstante, esta tendencia no se logra cuando la presión es de 400 MPa, ya que a 1 y 3 min se obtienen valores similares y sólo a 6 min el GM se reduce significativamente respecto a los tiempos de tratamiento más bajos (47-49% frente a 31%). En general, el GM se incrementa significativamente al aumentar la intensidad del tratamiento (más presión y tiempo), pero sólo hasta 200 MPa/6 min.

Tabla 16. GM, metanol esterificado y contenido de AGA en caquis no astringentes de maduración V.

Muestra	GM	Metanol esterificado	AGA
NA-C	18,9 ± 1,1D ^b _b	4,9 ± 0,3D ^a _b	157,7 ± 9,4B ^a _a
NA-200/1	34,9 ± 2,1C ^a _b	7,5 ± 0,4C ^a _b	130,4 ± 6,4CD ^b _a
NA-200/3	44,2 ± 0,4B ^a _b	7,3 ± 0,1C ^a _b	100,7 ± 4,1E ^b _b
NA-200/6	60,3 ± 3,3A ^a _a	11,8 ± 0,6AB ^a _a	118,3 ± 1,2DE ^a _b
NA-400/1	47,3 ± 0,7B ^a _a	12,3 ± 0,2A ^a _a	157,7 ± 6,4B ^a _b
NA-400/3	49,1 ± 2,1B ^a _a	11,5 ± 0,5AB ^a _a	142,4 ± 9,3BC ^b _a
NA-400/6	31,0 ± 0,4C ^a _a	10,8 ± 0,1B ^a _a	212,0 ± 0,0A ^a _a

GM: % molar (mol MeOH/100 mol AGA). Metanol esterificado: mg/g RIA. AGA de las pectinas: mg/g RIA. **Efecto tratamientos de APH:** diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (NA); ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan); mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla 15) y NA, para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla 14) y V, para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

En relación a la astringencia, cuando estas muestras no astringentes tratadas con APH (NA, V) se comparan con sus correspondientes muestras astringentes (A, V) (**efecto eliminación de la astringencia en maduración V**), se observa, que para todos los tratamientos de APH, los caquis no astringentes muestran GMs significativamente más

elevados (Figuras 60c y 60d). Estos resultados revelan que los tratamientos de APH modifican la tendencia encontrada entre los controles (A/NA-C, V).

Por otra parte, atendiendo al grado de maduración de los caquis tratados con APH (NA, III/V) (**efecto maduración en caquis no astringentes**), se constatan valores de GM significativamente más elevados en la mayoría de las muestras más maduras (NA, V) (Figuras 60b y 60d), lo que indica un cambio en el comportamiento observado entre las muestras control.

Al aplicar **altas presiones hidrostáticas** a los caquis no astringentes de maduración V el GM aumenta, porque el contenido de metanol esterificado se incrementa y, en general, los niveles de AGA se reducen o no sufren cambios (Tabla 16). Estos resultados también son observados al comparar, para igual tratamiento de APH, caquis de maduración V y **distinta astringencia** (A/NA, V), así como caquis de igual astringencia y **distinta maduración** (NA, III/V). Es interesante mostrar que los incrementos observados en el contenido de metanol esterificado siempre son inferiores al nivel de metanol del caqui astringente control de maduración III (A-C, III) (17 mg/g RIA), probablemente porque los incrementos de metanol van asociados a reducciones de la actividad PME en el fruto.

- **Análisis multivariante**

El análisis multivariante (dendrograma) aporta una visión global del GM que tienen las 28 muestras de caqui estudiadas. Analizando este parámetro, las muestras pueden clasificarse en cuatro conglomerados (grupos 1, 2, 3 y 4), constituidos por 3, 5, 9 y 11 muestras cada uno, y con valores de GM de 68, 47, 32 y 17 mol MeOH/100 mol AGA, respectivamente (Figura 61).

El grupo 1 (valor alto de GM) sólo contiene **caquis no astringentes**. En concreto, en este conglomerado se agrupa el control de maduración III (NA-C, III) y frutos que, con independencia del grado de maduración, han sido sometidos a 200 MPa (200 MPa/1 min, III; 200 MPa/6 min, V). El grupo 2 (valor intermedio alto de GM) también contiene únicamente caquis no astringentes, encontrando caquis de maduración III sometidos a 200 MPa, así como caquis de maduración V a los que se aplican tratamientos cortos (1 y 3 min) de APH.

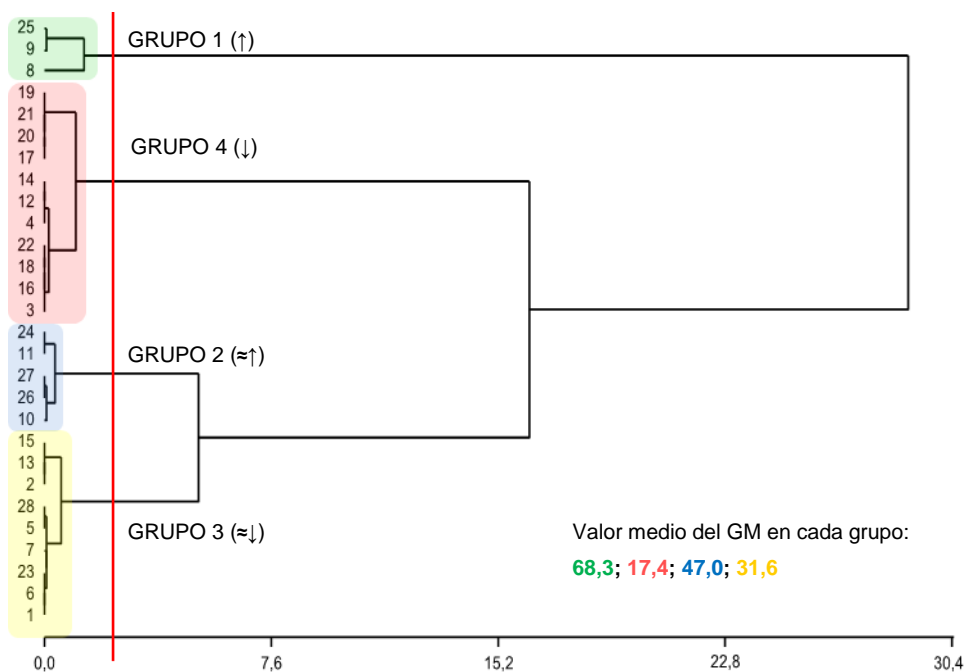


Figura 61. Dendrograma para grado de metilesterificación (GM). Cuatro conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

Por otra parte, tanto el grupo 3 (valor intermedio bajo de GM) como el grupo 4 (valor bajo de GM) se caracterizan por contener mayoritariamente **caquis astringentes**, de maduración III y V, respectivamente; en el grupo 3 destacan los controles (A-C, III/V) y los caquis sometidos a 400 MPa, mientras que en el grupo 4 se encuentran todos los caquis tratados con 200 y 400 MPa, lo que indica que, en general, los caquis astringentes de maduración V sometidos a APH tienen los menores GM.

El estudio del análisis multivariante agrupa las muestras para posibles usos de las mismas. En este sentido, frutos pertenecientes al grupo 1 y 2 son caquis no astringentes con GM alto e intermedio, es decir, caquis que contienen pectinas de alto metoxilo, mientras que las muestras correspondientes a los grupos 3 y 4 son frutos astringentes con GM intermedio y bajo, lo que indica la presencia de pectinas de bajo metoxilo.

- **Conclusiones parciales**

Los resultados obtenidos en relación al grado de metilesterificación ponen de manifiesto que, en comparación con los controles correspondientes, las altas presiones hidrostáticas reducen el grado de metilesterificación tanto en caquis no astringentes de maduración III como en caquis astringentes de maduración V. Sin embargo, las APH incrementan el GM en los caquis no astringentes más maduros (V), mientras que en los caquis astringentes de maduración III el GM depende de la presión aplicada. Por otra parte, la eliminación de la astringencia tiende a incrementar el GM y el proceso de maduración provoca descensos del GM en caquis. El GM tras la aplicación de APH viene condicionado por los parámetros de astringencia y maduración de los caquis.

6. PROPIEDADES TECNOFUNCIONALES

Las propiedades tecnofuncionales se estudiaron tanto en el residuo insoluble en alcohol como en material liofilizado. Debido a la composición química que presentan estas muestras, las propiedades tecnofuncionales están relacionadas con la estructura química de los polisacáridos que constituyen la pared celular, y pueden tener gran importancia en relación a la funcionalidad tecnológica que presentan materiales ricos en fibra alimentaria obtenidos a partir de la pulpa de caquis. Para evaluar las posibles modificaciones que el tratamiento de eliminación de la astringencia con CO₂, el proceso fisiológico de maduración y la aplicación de tratamientos de APH provocan en las propiedades de la pared celular de los caquis, se cuantifican la densidad aparente (DA), capacidad de retención de aceite (CRAc), capacidad de gelificación (MCG) y propiedades de hidratación como capacidad de absorción de agua (CAA), capacidad de retención de agua (CRA) y capacidad de hinchamiento (CH).

Este estudio se lleva a cabo en el residuo insoluble en alcohol (RIA) por ser el material rico en fibra alimentaria utilizado en esta tesis para conocer el contenido y composición de la pared celular de los caquis. Además, para que la revalorización del caqui sea lo más económicamente viable posible, se considera interesante realizar el estudio de las propiedades tecnofuncionales no sólo en el RIA sino también en el caqui liofilizado. Esta aproximación supone un importante ahorro económico así como una ventaja medioambiental, ya que se evita el proceso de extracción etanólica con la consiguiente ausencia de residuos orgánicos.

Propiedades Tecnofuncionales de Caquis sin Tratamiento de APH

- **Caqui astringente control de maduración III**

En la Figura 62 (Tablas A.21 y A.22 del Anexo) se muestran las propiedades tecnofuncionales que presenta el **RIA** del caqui astringente control de maduración III (A-C, III). Este residuo alcohólico es rico en fibra alimentaria, por lo que se consideró necesario utilizar polisacáridos (celulosa y pectina) como referencia.

En relación a la densidad aparente, el RIA exhibe un valor de 0,18 g RIA/mL, inferior a la DA encontrada en los RIAs de zanahoria y cereza (Chau y col., 2004; Basanta y col., 2014), así como en concentrados de naranja y melocotón (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1998; Grigelmo-Miguel y col., 1999c). La DA depende de las características estructurales (tamaño de partícula y su distribución) de cada material (Larrauri y col., 1994), y aporta información tanto de la porosidad como del área superficial de dicho material. Cuanto menor es la DA mayor será la porosidad, lo que influirá en el resto de las propiedades tecnofuncionales (Benítez, 2011); es esperable que si la composición química del material se mantiene constante, exista relación directa entre la porosidad y la capacidad de retener agua y aceite (Yeh y col., 2005).

Otra de las propiedades estudiadas es la capacidad de retención de aceite, que alcanza 12,2 mL/g RIA en este caqui astringente (A-C, III), valor similar al obtenido por Elleuch y col. (2008) en concentrado de dátiles, así como por Femenia y col. (2009) en RIA de kiwi, pero mayor que el que presentan concentrados de cítricos, melocotón, manzana, mango y zanahoria (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1998; Grigelmo-Miguel y col., 1999b; Figuerola y col., 2005; Vergara-Valencia y col., 2007; Eim y col., 2008; de Moraes Crizel y col., 2013). En comparación con la bibliografía (Larrauri y col., 1996; Garau y col., 2007; Wang y col., 2015) también se constata que la CRAc del caqui astringente de maduración III es mayor que la que presentan la piel tanto de cítricos como de mangos, así como el RIA de zanahoria (Chau y col., 2004). Esta propiedad tecnofuncional se define como la cantidad de aceite que permanece en el material tras la aplicación de una fuerza externa (centrifugación). Entre las propiedades estudiadas también se encuentra la capacidad de gelificación, cuya determinación se realiza cuantificando la mínima concentración de gelificación (MCG), de forma que cuanto menor es la MCG mejor será la capacidad de gelificación del ingrediente. El caqui astringente control (A-C, III) tiene una MCG del 4%, valor notablemente menor que el observado en celulosa (>24%) y pectina (10%).

En lo que respecta a las propiedades de hidratación, cabe indicar que estas características son importantes para conocer la viabilidad de utilizar un material vegetal como ingrediente tecnofuncional porque, además de aportar información sobre la cantidad de agua necesaria para hidratar el producto deshidratado (Femenia y col., 2009), afectan a la estructura del producto final (Biswas y col., 2011). En este sentido, se debe tener en cuenta que los polisacáridos que constituyen la pared celular son hidrofílicos principalmente, por lo que el agua puede quedar retenida tanto en los puntos hidrofílicos de los polisacáridos como en los espacios vacíos de su estructura molecular (Mohanty y Nayak, 2011; Wang y col., 2015). Por otra parte, también se debe tener en cuenta que estas propiedades pueden atribuirse tanto a contenidos elevados de fibra insoluble (Thebaudin y col., 1997; Figuerola y col., 2005), como a altos contenidos de fibra soluble y/o sustancias pécticas (Larauri y col., 1996; Koubala y col., 2013). Las capacidades de absorción (CAA) y de retención de agua (CRA) representan el volumen de hidratación bajo fuerzas centrífugas, mientras que la capacidad de hinchamiento (CH) representa el volumen de hidratación bajo fuerzas gravitatorias (López y col., 1996). En este contexto, cabe indicar que la CH depende de las características de los componentes individuales, así como de la estructura física (porosidad y cristalinidad) (Raghavendra y col., 2006), y está relacionada con la solubilidad de la pared celular, ya que antes de que se produzca la solubilización de los polisacáridos tiene lugar el hinchamiento de la matriz de fibra (Thebaudin y col., 1997).

A la vista de los resultados obtenidos (Tablas A.21 y A.22 del Anexo), las tres propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH) son estadísticamente mayores en el caqui (A-C, III) en comparación con los valores detectados en la celulosa y en la pectina. La CRA (15 mL/g RIA) es similar al valor obtenido en el RIA tanto de kiwi como de subproductos de naranja (Garau y col., 2007; Femenia y col., 2009), así como en la piel de zanahoria y naranja (Chantaro y col., 2008; Wang y col., 2015). En cambio, la CRA del caqui es menor que en manzanas (Massiot y Renard, 1997) y piel de limones y pomelos (Wang y col., 2015), pero mayor que la CRA del concentrado de manzana (Figuerola y col., 2005) y de los RIAs de cereza y zanahoria (Chau y col., 2004; Basanta y col., 2014). Asimismo, en lo que respecta a la CH, el valor observado en el caqui (18 mL/g RIA) es similar al que presentan la piel de otras frutas y hortalizas (Chantaro y col., 2008; Koubala y col., 2013; Wang y col., 2015), aunque menor que el de los RIAs de kiwi y ciruela (Femenia y col., 2009; Kosmala y col., 2013), pero mayor que la CH del concentrado de manzana (Figuerola y col., 2005) y RIA de cereza (Basanta y col., 2014). Probablemente este último caso sea consecuencia de que el RIA

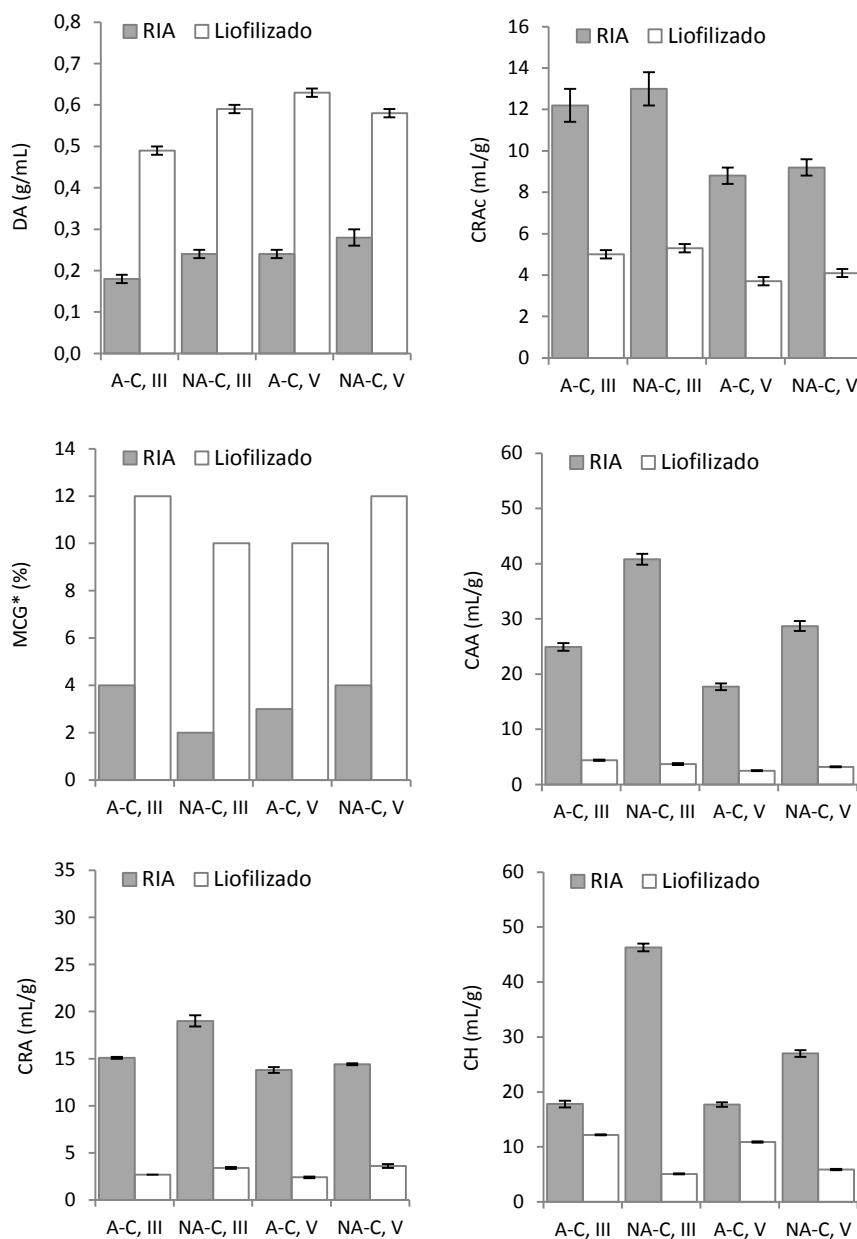


Figura 62. Propiedades tecnofuncionales en caquis sin tratamiento de APH. *No se incluye barra de error por la naturaleza del ensayo analítico.

del caqui es menos denso que el material rico en fibra alimentaria obtenido a partir de manzana y cereza, lo que conlleva que el área superficial del RIA y, en consecuencia, los grupos polares y ácidos urónicos estén más expuestos al agua que le rodea, incrementando así el volumen de hinchamiento (Chau y col., 2004).

Los resultados obtenidos en el **lío**filizado de este tipo de caqui (A-C, III) también se muestran en la Figura 62 (Tablas A.21 y A.22 del Anexo) y ponen de manifiesto que este material vegetal presenta una densidad aparente significativamente más elevada que la del RIA. Esta propiedad del liofilizado es menor que la cuantificada por Elizondo Montemayor y col. (2015) en mango, pero es similar a la DA de concentrados de frutas (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1998; Grigelmo-Miguel y col., 1999c). El resultado de DA indica que la muestra liofilizada tiene menor porosidad que el RIA, lo que queda confirmado con la capacidad de retención de aceite, ya que esta propiedad es estadísticamente menor en el caqui liofilizado que en el RIA correspondiente. El valor alcanzado en este estudio es similar al que presentan concentrados de naranja (de Moraes Crizel y col., 2013) así como piel de cítricos y piel de mango (Larrauri y col., 1996; Garau y col., 2007; Wang y col., 2015), pero mayor que la CRAC de concentrados de melocotón, mango y manzana (Grigelmo-Miguel y col., 1999c; Figuerola y col., 2005; Vergara-Valencia y col., 2007). En lo que respecta a las propiedades de hidratación, también se observa que todas son significativamente más bajas en el liofilizado que en el RIA. Cabe destacar que, si bien la CRA del liofilizado de caqui (A-C, III) es similar a la obtenida por Figuerola y col. (2005) en concentrado de manzana, el valor cuantificado es considerablemente menor que el mostrado por otros materiales ricos en fibra alimentaria (Chantaro y col., 2008; Basanta y col., 2014; Wang y col., 2015). Por el contrario, los niveles de MCG son más elevados en el liofilizado, lo que implica que este tipo de muestra tiene menor capacidad para formar geles, probablemente porque en este material están presentes compuestos que no pertenecen al complejo de fibra alimentaria (pared celular).

Por lo tanto, el RIA del caqui astringente control de maduración III se puede definir como un material más poroso que el caqui liofilizado, presentando mejores características de retención de aceite y agua, así como de gelificación.

- **Caqui no astringente control de maduración III**

Las propiedades tecnofuncionales del **RIA** del caqui no astringente control de maduración III (NA-C, III) se recogen en la Figura 62 (Tablas A.21 y A.22 del Anexo).

Los resultados ponen de manifiesto que la densidad aparente y la capacidad de retención de aceite son similares a los niveles cuantificados en el caqui astringente (A-C, III), mientras que la capacidad de gelificación así como las propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH) se incrementan significativamente al eliminar la astringencia mediante el CO₂ (**efecto eliminación de la astringencia en maduración III**). Por lo tanto, se constata que el RIA del caqui no astringente (NA-C, III) es una material vegetal cuya porosidad y propiedades de retener aceite, hidratarse y formar geles son mayores que las mostradas por los patrones de celulosa y pectina. Atendiendo a la CRA cabe mostrar que, si bien el valor obtenido en el RIA del caqui es similar a la CRA observada por Massiot y Renard (1997) en manzana, la CRA de la piel de limones y pomelos (Wang y col., 2015) es mayor que la conseguida en el caqui (NA-C, III). Por otra parte, en lo que respecta a la CH, destaca que en el caqui esta propiedad tecnofuncional es similar a la obtenida por Femenia y col. (2009) en kiwi, pero mayor que la CH en ciruela (Kosmala y col., 2013).

En relación al **lío**filizado, en la Figura 62 (Tablas A.21 y A.22 del Anexo) se observa que los valores cuantificados en todas las propiedades son significativamente distintos a los constatados en el RIA, lo que conlleva que probablemente la muestra liofilizada tenga características más deficientes para ser utilizada como ingrediente tecnológico. Así, su comparación con el RIA, además de mostrar una mayor densidad aparente, presenta menor capacidad de retener aceite, interaccionar con el agua y formar geles. Por otra parte, la eliminación de la astringencia mediante el tratamiento con CO₂ sólo afecta a las capacidades de hinchamiento y gelificación; la CH se reduce un 58% y la MCG mejora disminuyendo de 12 a 10% (**efecto eliminación de la astringencia en maduración III**). En comparación con la bibliografía, se constata que el liofilizado de caqui no astringente de maduración III muestra un valor de DA similar al que presenta el concentrado de melocotón, pero con una CRAc cinco veces mayor que la de este subproducto vegetal (Grigelmo-Miguel y col., 1999a). La capacidad que el liofilizado de caqui tiene para retener aceite es equivalente a la que exhiben concentrados de naranja (de Moraes Crizel y col., 2013) así como piel de cítricos y piel de mango (Larrauri y col., 1996; Garau y col., 2007; Wang y col., 2015). Sin embargo, estas muestras presentan propiedades de hidratación mayores que el liofilizado de caqui (NA-C, III), mientras que los resultados obtenidos en el caqui son similares a los conseguidos por Figuerola y col. (2005) en concentrado de manzana.

En resumen, en el caqui no astringente control de maduración III el RIA muestra mejor funcionalidad tecnológica que el liofilizado, y que la celulosa y pectina utilizadas

como referencia. En general, la eliminación de la astringencia de los caquis aplicando el tratamiento de CO₂ sólo afecta a las propiedades de hidratación y a la formación de geles, las cuales se ven favorecidas cuando los caquis carecen de astringencia.

- **Caqui astringente control de maduración V**

En la Figura 62 (Tablas A.21 y A.22 del Anexo) se muestran las propiedades tecnológicas del **RIA** extraído del caqui astringente control de maduración V (A-C, V). Se constata que el caqui más maduro presenta, respecto al caqui astringente de maduración III (A-C, III) (**efecto maduración de caquis astringentes**), valores similares de densidad aparente y capacidad de hinchamiento. Sin embargo, tanto la capacidad de retención de aceite como las capacidades de absorción/retención de agua se reducen con el avance de la maduración, tendencia también observada por Femenia y col. (2009) en kiwi. A pesar de que en la bibliografía (Redgwell y Fischer, 2005) se indica que la capacidad que el material de la pared celular (RIA) presenta para interaccionar con el agua puede mejorar durante la maduración de las frutas, en el caqui astringente la maduración conlleva el efecto contrario. Este hecho puede ser probablemente debido a que el RIA se solubiliza durante el proceso de determinación de las propiedades de hidratación CAA y CRA. La CRAc es similar al resultado obtenido por Elleuch y col. (2008) en concentrado de dátiles, pero mayor que el que presentan concentrados de frutas (Grigelmo-Miguel y col., 1999c; Figuerola y col., 2005; Vergara-Valencia y col., 2007; de Moraes Crizel y col., 2013) y piel de cítricos (Garau y col., 2007; Wang y col., 2015). A la vista de los resultados de este estudio también se pone de manifiesto que la CRA es similar al valor obtenido en el RIA tanto de kiwi como de subproductos de naranja (Garau y col., 2007; Femenia y col., 2009), pero mayor que la CRA del concentrado de manzana (Figuerola y col., 2005) y del RIA de cereza (Basanta y col., 2014). Por otra parte, sólo la capacidad de formar geles parece mejorar con el proceso de maduración, ya que la MCG descende del 4% en el caqui menos maduro (A-C, III) al 3% en el caqui más maduro (A-C, V).

En relación al **lío filizado** (Figura 62; Tablas A.21 y A.22 del Anexo), de nuevo los resultados obtenidos en todas las propiedades son significativamente distintos a los encontrados en el RIA, lo que conlleva que probablemente la muestra liofilizada tenga características más deficientes para ser utilizada como ingrediente tecnológico. Así, su comparación con el RIA, además de mostrar una mayor densidad aparente, presenta menor capacidad de retener aceite, así como menor interacción con el agua y formación de geles. Por otra parte, la maduración de los caquis astringentes (**efecto**

maduración de caquis astringentes) conlleva menor capacidad de interacción tanto con aceite como con agua, aunque se favorece la gelificación en las muestras liofilizadas. Aun así, las propiedades tecnofuncionales que presenta el liofilizado de caqui (A-C, V) son más favorables que las encontradas en concentrado de manzana, subproducto utilizado como ingrediente alimentario (Figuerola y col., 2005).

En resumen, el RIA del caqui astringente de maduración V es un material cuyas propiedades tecnológicas son mejores que las constatadas tanto en su liofilizado como en los patrones de celulosa y pectina. La maduración influye en la capacidad de retención de aceite y en las capacidades de absorber/retener agua que disminuyen, así como en la formación de geles, que se ve favorecida.

- **Caqui no astringente control de maduración V**

El **RIA** del caqui no astringente control más maduro (NA-C, V) muestra las propiedades tecnológicas recogidas en la Figura 62 (Tablas A.21 y A.22 del Anexo). Atendiendo a los cambios que provoca la eliminación de la astringencia (**efecto eliminación de la astringencia en maduración V**), se observan respecto al caqui astringente (A-C, V) niveles similares de densidad aparente y capacidad de retención de aceite, así como capacidad de retención de agua, que aparecen junto a aumentos significativos de las otras dos propiedades de hidratación (CAA y CH) y reducción de la capacidad de gelificación. En relación a la maduración de caquis no astringentes (**efecto maduración de caquis no astringentes**), los datos revelan que la densidad aparente es la única propiedad que no cambia significativamente, mientras el resto de las propiedades tecnológicas (CRAC, CAA, CRA, CH y capacidad de gelificación) muestran valores inferiores que en el caqui menos maduro (NA-C, III).

En comparación con estudios llevados a cabo por otros autores, se revela que el RIA del caqui no astringente de maduración V (NA-C, V) es un material menos denso que los concentrados de naranja y melocotón (Grigelmo-Miguel y Martín-Belloso, 1998; Grigelmo-Miguel y col., 1999c) y que el RIA de cereza (Basanta y col., 2014). La CRAC es similar al resultado del concentrado de dátiles (Elleuch y col., 2008), pero mayor que el que presentan concentrados de otras frutas (Figuerola y col., 2005; Vergara-Valencia y col., 2007; de Moraes Crizel y col., 2013) y piel de cítricos (Wang y col., 2015). En lo que respecta a las propiedades de hidratación, el resultado de CRA es similar al que exhiben el kiwi y los subproductos de naranja (Garau y col., 2007; Femenia y col., 2009), pero mayor que la CRA del concentrado de manzana (Figuerola y col., 2005) y

del RIA de cereza (Basanta y col., 2014). En lo que respecta a la CH, el valor cuantificado en el RIA del caqui es similar al que presentan los RIAs de kiwis y ciruelas (Femenia y col., 2009; Kosmala y col., 2013).

En relación al **lío­filizado** (Figura 62; Tablas A.21 y A.22 del Anexo), los resultados obtenidos en todas las propiedades son significativamente distintos a los encontrados en el RIA, mostrando mayor densidad aparente, menor capacidad de retener aceite, junto a propiedades de hidratación y formación de geles menos favorables. Por otra parte, la eliminación de la astringencia mediante el tratamiento con CO₂ (**efecto eliminación de la astringencia en maduración V**) sólo afecta de manera negativa a las capacidades de hinchamiento y gelificación; la CH se reduce un 46% y la MCG aumenta de 10 a 12%. Asimismo, la maduración de los caquis no astringentes (**efecto maduración de caquis no astringentes**) proporciona muestras liofilizadas con menor capacidad de retención de aceite y gelificación.

Por lo tanto, la eliminación de la astringencia mediante la aplicación de CO₂ en caquis de maduración V proporciona un RIA con propiedades de hidratación mejoradas, aunque la capacidad de formar geles se ve afectada negativamente. En este contexto, se observa que la maduración de los caquis no astringentes provoca, en gran medida, la pérdida de las características tecnológicas del RIA.

- **Conclusiones parciales**

De los resultados obtenidos en estos cuatro bloques de muestras analizadas (A/NA-C, III/V) se deduce que los RIAs presentan mejores propiedades tecnofuncionales que los liofilizados, mostrando mayores características de hidratación, gelificación y retención de aceite, acompañadas con menores densidades aparentes. Estas características sugieren que los RIAs pueden tener aplicaciones potenciales (ej. estabilizante de emulsiones, texturizante, espesante,...) en el desarrollo de alimentos. Además, se pone de manifiesto que el RIA del caqui no astringente de maduración III es el material que tiene las características más apropiadas para ser utilizado como ingrediente de productos alimenticios, ya que exhibe las capacidades de hidratación y gelificación más elevadas, además de poseer alta capacidad de retención de aceite. Por lo tanto, podría ser añadido en numerosas matrices alimentarias (postres, productos lácteos,...) que precisaran de mayor contenido de agua en su formulación y/o si se quiere evitar la pérdida de materia grasa, así como favorecer la retención de componentes volátiles. La eliminación de la astringencia, al contrario que la

maduración, parece tener un efecto positivo sobre la valorización de excedentes y destrío de caquis, principalmente cuando los caquis están inmaduros.

Propiedades Tecnofuncionales de Caquis Tratados con APH

- **Caquis astringentes de maduración III (A, III)**

Tratamientos de APH frente al control

En relación al efecto que las APH ejercen sobre la funcionalidad tecnológica del **RIA**, los resultados obtenidos se muestran en las Figuras 63 y 64 (Tablas A.23 y A.24 del Anexo), y ponen de manifiesto que en caquis astringentes de maduración III (A, III), sólo la capacidad de retención de agua no experimenta cambios significativos respecto al control (A-C, III) al aplicar APH. El resto de las características tecnofuncionales estudiadas se modifican de manera significativa mediante la aplicación de APH. Atendiendo a las combinaciones de presión/tiempo que provocan estos cambios, se constata que cuando el tiempo de exposición a la presión hidrostática es de 1 y 6 min, y con independencia de la presión (200 ó 400 MPa), la densidad aparente se incrementa, lo que supone que el residuo rico en fibra alimentaria (RIA) tenga menor porosidad. Por el contrario, la capacidad de retención de aceite tiende a disminuir con la aplicación de APH, lo que corrobora los mayores niveles de DA. Por lo tanto, las APH reducen la porosidad del RIA y, en consecuencia, la retención de componentes lipídicos en el RIA queda desfavorecida.

En la Figura 63 también se detecta que someter los caquis astringentes de maduración III a APH mejora la capacidad de formar geles, ya que para todos los tratamientos de APH la MCG es menor que en el control (A-C, III). Asimismo, tanto el tratamiento 400 MPa/1 min como la aplicación de 200 MPa conllevan aumentos de las capacidades de absorción de agua e hinchamiento.

En estudios recientes llevados a cabo en el grupo de investigación en el que se realizó esta tesis, se ha comprobado que el empleo de APH tiene diferentes resultados dependiendo tanto de los parámetros de presión, tiempo y temperatura empleados como de la matriz alimentaria objeto de estudio. Así, en el caso de bulbos de cebolla sometidos a 100, 300 y 600 MPa durante 3 minutos, se observaron comportamientos similares a los mostrados en este estudio en relación a la capacidad de retención de aceite (Torres, 2013), mientras que la capacidad de hinchamiento disminuye significativamente en cebolla, lo contrario a lo detectado en caquis. Los resultados

revelan que los cambios producidos por las APH están estrechamente relacionados con los principales componentes que forman parte de la pared celular (RIA).

Atendiendo a la muestra **liofilizada** (Figuras 63 y 64; Tablas A.23 y A.24 del Anexo), se observa que las capacidades de retención de agua/aceite presentan niveles similares en los caquis tratados y en el control (A-C, III). Para el resto de propiedades, existen combinaciones de presión/tiempo que modifican de manera significativa las características tecnológicas de la muestra liofilizada. Así, se observa que al someter los caquis a 400 MPa la densidad aparente se incrementa, aunque no se corresponde con el habitual cambio de CRAC. La capacidad de formación de geles tiende a mejorar mediante la aplicación de APH, puesto que, en general, se detectan reducciones en el valor de la MCG. En las propiedades de hidratación, la influencia ejercida por las APH es mayor en la capacidad de hinchamiento que en la capacidad de absorción de agua.

Los resultados obtenidos para los RIAs y liofilizados ponen de manifiesto que los caquis tratados con APH mantienen características tecnofuncionales similares a otros materiales ricos en fibra. En este sentido, las DAs (0,20-0,65 g/mL) son próximas a los valores de la bibliografía (Grigelmo-Miguel y col., 1999a; Chau y col., 2004; Basanta y col., 2014); los valores de CRAC (5-13 mL/g) son mayores a los niveles (1-15 mL/g) obtenidos por otros autores (Garau y col., 2007; Femenia y col., 2009; de Moraes Crizel y col., 2013; Wang y col., 2015); las propiedades de hidratación CRA (2-16 mL/g) y CH (6-30 mL/g) muestran valores intermedios a los presentes en la bibliografía (Figuerola y col., 2005; Garau y col., 2007; Femenia y col., 2009; Mateos-Aparicio y col., 2010; Kosmala y col., 2013; Basanta y col., 2014).

En definitiva, en los caquis astringentes de maduración III las APH aumentan la densidad aparente al tiempo que mejoran la capacidad de formación de geles, tanto en el RIA como en el liofilizado. La mayoría de los tratamientos de APH provocan un descenso en la CRAC del RIA, sin embargo, esta propiedad tecnológica en el liofilizado no se ve afectada. Las propiedades de hidratación CAA y CH sufren variaciones con las APH; en el RIA tanto la CAA como la CH tienden a aumentar como consecuencia de la aplicación de altas presiones hidrostáticas, mientras que en el liofilizado la tendencia es contraria en ambas propiedades.

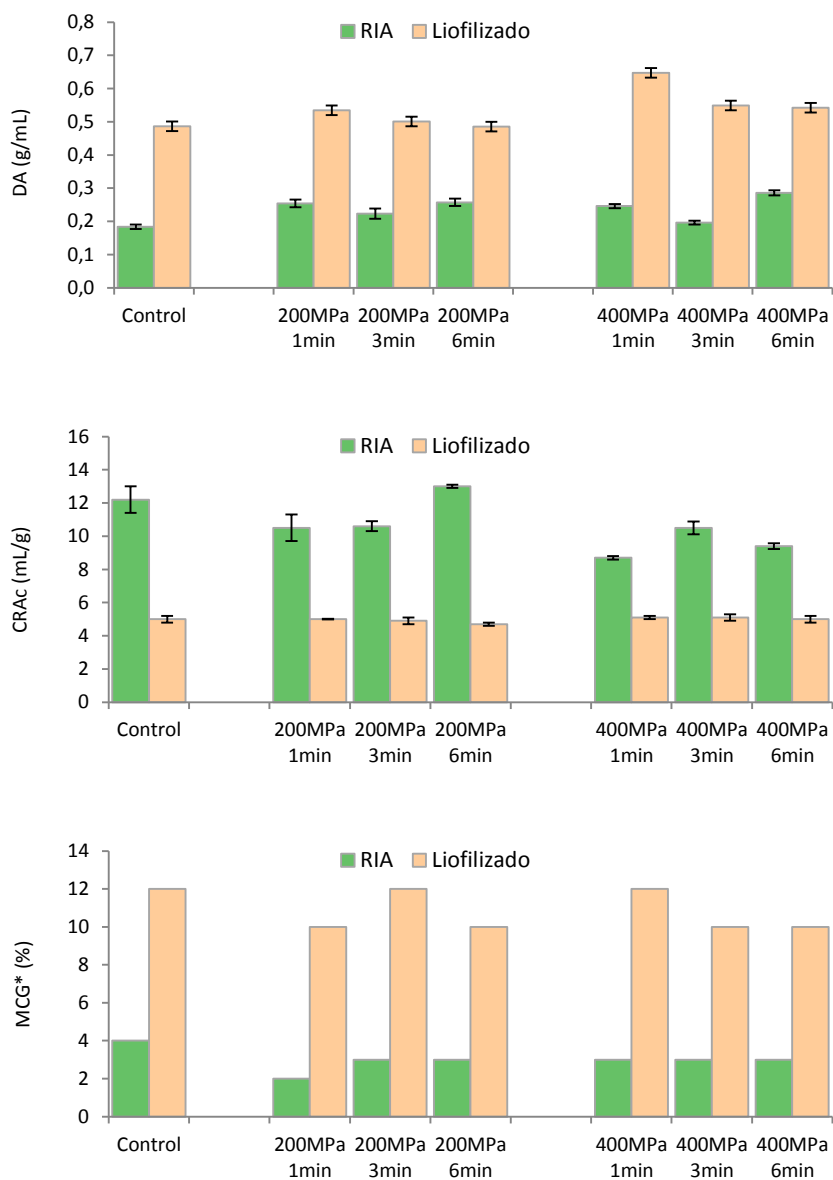


Figura 63. Efecto de las APH sobre la DA, CRAC y MCG en caquis astringentes de maduración III.

*No se incluye barra de error por la naturaleza del ensayo analítico.

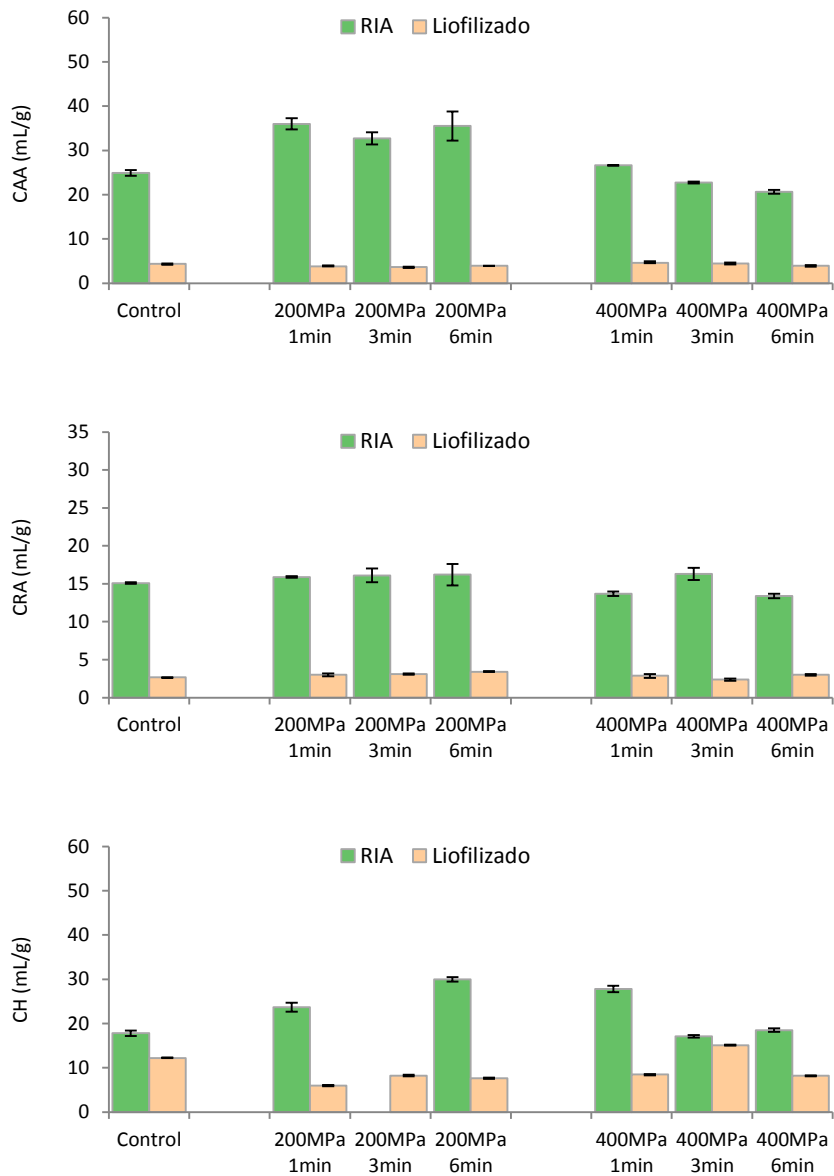


Figura 64. Efecto de las APH sobre las propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH) en caquis astringentes de maduración III.

- **Caquis no astringentes de maduración III (NA, III)**

Tratamientos de APH frente al control

Los resultados obtenidos en la cuantificación de las propiedades tecnológicas del **RIA** se muestran en las Figuras 65 y 66 (Tablas A.25 y A.26 del Anexo) y revelan que, en comparación con el caqui control (NA-C, III), ninguno de los tratamientos de APH modifica significativamente el valor de densidad aparente del RIA. Sin embargo, el resto de las propiedades cambian de manera significativa al aplicar APH. En concreto, la capacidad de retención de aceite se reduce significativamente al aplicar 200 MPa/1-6 min y 400 MPa/1 min. Asimismo, el tratamiento 400 MPa/1 min disminuye la capacidad de formación de geles del RIA, tendencia que también se consigue con 200 MPa/3 min. Atendiendo a las propiedades de hidratación, destaca que los tratamientos de 200 MPa/1 min y 400 MPa/6 min provocan los mayores aumentos de la capacidad de absorción de agua, tendencia que en la capacidad de retención de agua sólo se alcanza con 200 MPa/1 min. Por el contrario, los tratamientos de APH estudiados provocan descensos en la capacidad de hinchamiento del RIA, lo que implica menor cantidad de agua débilmente ligada a la matriz de este material.

Atendiendo al efecto que las APH tienen sobre las propiedades de las muestras **líoofilizadas**, en las Figuras 65 y 66 (Tablas A.25 y A.26 del Anexo) se observa que la capacidad de retención de aceite es la única propiedad que no se modifica de manera significativa respecto al control (NA-C, III). Teniendo en cuenta solamente los tratamientos que generan cambios estadísticamente significativos en las demás propiedades, se establecen las siguientes consideraciones: en primer lugar, la densidad aparente de las muestras líoofilizadas aumenta al aplicar 200 MPa/6 min y 400 MPa/1 min. Los tratamientos 200 MPa/3-6 min y 400 MPa/6 min provocan reducción de la capacidad de formación de geles; es preciso una mayor cantidad de líoofilizado para lograr la gelificación. En relación a las propiedades de hidratación, tanto la capacidad de absorción de agua como la capacidad de hinchamiento muestran valores más bajos, destacando los tratamientos 200 MPa/3 min y 400 MPa/1-3 min. Sin embargo, la capacidad de retención de agua se mantiene estable con la mayoría de los tratamientos de APH, de tal manera que sólo el tratamiento más drástico de 400 MPa/6 min provoca un aumento significativo.

De la comparación entre los resultados de este estudio (RIA y liofilizado) y los trabajos llevados a cabo por otros autores es destacable que los RIAs y liofilizados de los caquis no astringentes tratados con APH muestran CRAC (4-13 mL/g) más elevadas que los niveles de CRAC (1-15 mL/g) encontrados en otros materiales ricos en fibra alimentaria (Garau y col., 2007; Femenia y col., 2009; de Moraes Crizel y col., 2013; Wang y col., 2015). Además, se observa que las propiedades de hidratación CRA (3-31 mL/g) y CH (4-39 mL/g) son mayores que las mostradas por otros materiales vegetales (Guillon y col., 2000; Figuerola y col., 2005; Femenia y col., 2009; Kosmala y col., 2013; Basanta y col., 2014; Wang y col., 2015).

Efecto eliminación de la astringencia en maduración III

En relación a las propiedades del **RIA**, si estas muestras no astringentes tratadas con APH (NA, III) se comparan con sus respectivas muestras astringentes (Tablas de A.23 a A.26 del Anexo) se constata que los resultados de DA sólo son significativamente distintos entre los caquis astringentes y no astringentes (A/NA, III) al aplicar 400 MPa/6 min, siendo en este caso los frutos no astringentes los que exhiben la mayor porosidad. En lo relativo a la MCG no se alcanza una tendencia clara, mientras que en el resto de las propiedades predominan, para igual tratamiento de APH, niveles estadísticamente distintos entre los caquis de distinta astringencia. En concreto, la CRAC es mayor en los caquis astringentes si la presión es de 200 MPa, tendencia contraria a la observada con los tratamientos de 400 MPa. En las propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH) se observa, en general, que tras la aplicación de un mismo tratamiento de APH, es en los caquis no astringentes donde se detectan los valores más elevados.

A diferencia de lo que ocurre en el RIA, para un tratamiento de APH determinado, la eliminación previa de la astringencia incrementa significativamente la DA del **liofilizado**, favoreciendo así la obtención de un material menos poroso. Además, se observa que ni la CRAC ni la MCG dependen del factor astringencia, ya que a igual tratamiento de APH se alcanzan valores similares entre caquis astringentes y no astringentes (A/NA, III). En lo relativo a las propiedades de hidratación, la tendencia parece ser distinta a la observada en el RIA; la CRA (agua fuertemente ligada) es la única propiedad en la que los valores significativamente mayores se encuentran en los caquis no astringentes (NA, III).

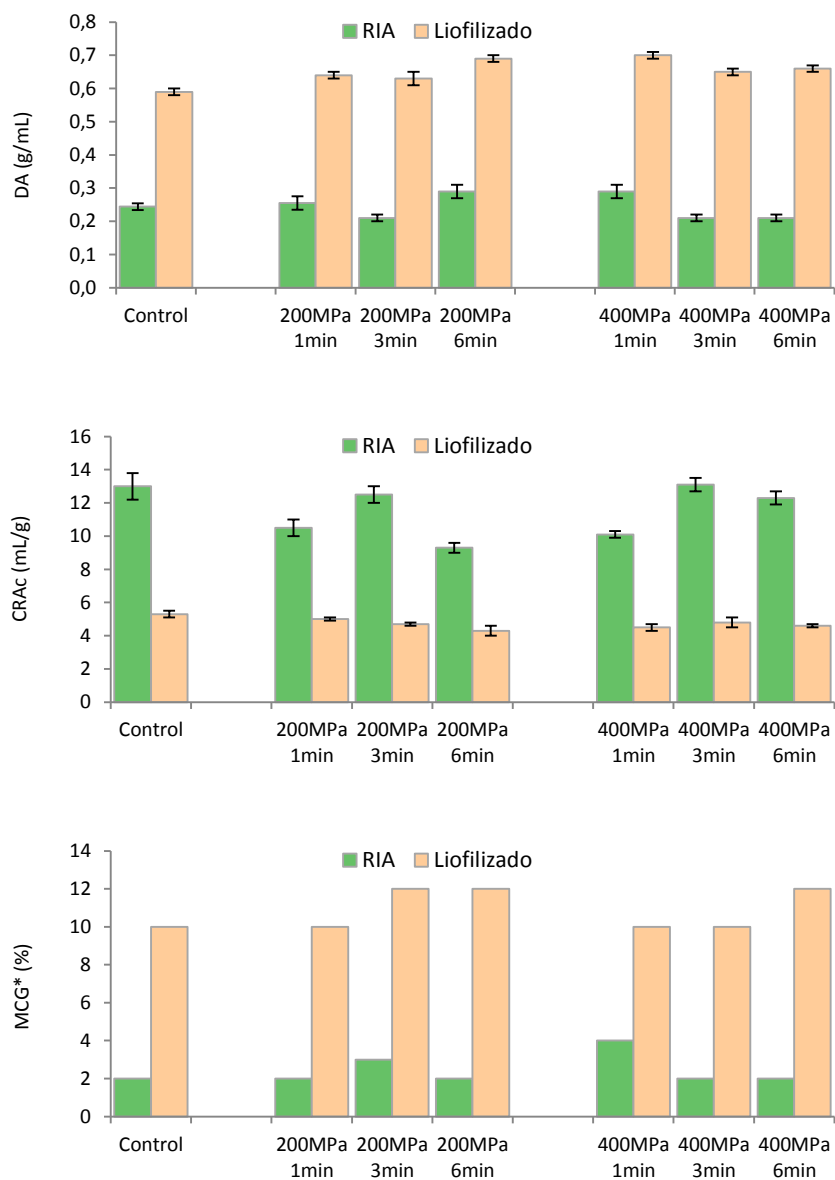


Figura 65. Efecto de las APH sobre la DA, CRAC y MCG en caquis no astringentes de maduración III. *No se incluye barra de error por la naturaleza del ensayo analítico.

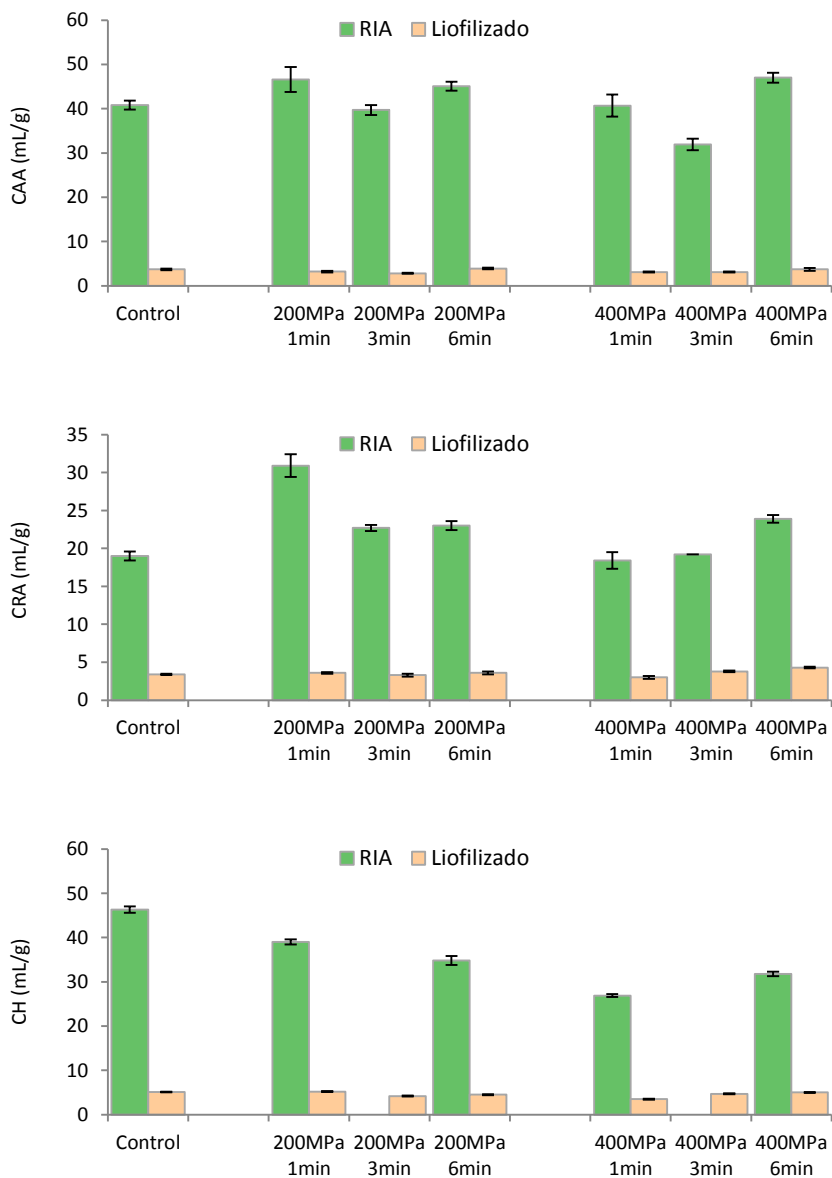


Figura 66. Efecto de las APH sobre las propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH) en caquis no astringentes de maduración III.

En resumen, los tratamientos de APH aplicados a caquis no astringentes de maduración III tienden a favorecer la obtención de un RIA con propiedades mejoradas de CAA y CRA, pero con propiedades de CH, CRAc y gelificación desfavorables, respecto al caqui control (NA-C, III). Los resultados para el liofilizado son, en general, similares, aunque cabe indicar que las propiedades tecnológicas del RIA parecen ser las más susceptibles a modificarse con la aplicación de APH. La comparación de caquis de maduración III con distinta astringencia (A/NA, III) pone de manifiesto que, tanto en el RIA como en el liofilizado, el factor astringencia condiciona el nivel de las propiedades de hidratación que, si bien en el RIA son más elevadas cuando los caquis son no astringentes, en el liofilizado son los caquis astringentes los que generalmente presentan los valores más altos.

- **Caquis astringentes de maduración V (A, V)**

Tratamientos de APH frente al control

En las Figuras 67 y 68 (Tablas A.27 y A.28 del Anexo) se recogen los resultados de las propiedades tecnológicas que presenta el **RIA**, donde se pone de manifiesto que la capacidad de retención de aceite es la única propiedad que no cambia de manera significativa respecto al control (A-C, V) al aplicar APH; el resto de las propiedades cambian significativamente con la aplicación de al menos uno de los tratamientos de APH estudiados. Así, se destaca que el tratamiento de 200 MPa/6 min, así como la presión de 400 MPa con independencia del factor tiempo, reducen la capacidad que tiene el RIA para formar geles. Por el contrario, en lo que respecta a las propiedades de hidratación, los cambios originados por las APH están más relacionados con una mejora de las características del RIA desde un punto de vista tecnológico. En concreto, todos los tratamientos de APH incrementan significativamente el valor de la capacidad de absorción de agua, lo cual también ocurre en la capacidad de retención de agua cuando los frutos se tratan con 200 MPa/6 min y 400 MPa/1 min. Asimismo, la capacidad de hinchamiento en general se favorece al aplicar cualquiera de las dos presiones, ya que tanto con los tratamientos 200 MPa/3-6 min como 400 MPa/1-3 min se observan niveles mayores que los cuantificados en el caqui control (A-C, V). También resulta interesante destacar que con 400 MPa las propiedades de hidratación disminuyen al prolongar la duración del tratamiento.

En lo que respecta a la funcionalidad tecnológica del **liofilizado**, se observa (Figuras 67 y 68; Tablas A.27 y A.28 del Anexo) un drástico descenso de las propiedades

respecto al RIA. En las muestras liofilizadas la capacidad de retención de aceite es similar en los caquis tratados con APH y en el control (A-C, V). El valor de las demás propiedades tecnológicas está influenciado por los tratamientos de APH; se destaca la menor capacidad de formar geles que tienen las muestras al aplicar 400 MPa/1 y 6 min, así como la reducción de la capacidad de hinchamiento cuando los caquis se someten a 400 MPa.

Si se comparan los resultados de este estudio (RIA y liofilizado) con los resultados obtenidos en estudios llevados a cabo por otros autores, se pone de manifiesto que tanto los RIAs como liofilizados de caquis astringentes maduros tratados con APH (A, V) muestran CRAc (4-10 mL/g) similares a los niveles de CRAc (1-15 mL/g) encontrados en otros materiales ricos en fibra alimentaria (Garau y col., 2007; Femenia y col., 2009; de Moraes Crizel y col., 2013; Wang y col., 2015). Además, las propiedades de hidratación como CRA (3-17 mL/g) y CH (6-27 mL/g) tienen valores intermedios a los mostrados por otros autores (Guillon y col., 2000; Figuerola y col., 2005; Femenia y col., 2009; Kosmala y col., 2013; Basanta y col., 2014; Wang y col., 2015).

Efecto maduración en caquis astringentes

Atendiendo a cómo influye el grado de maduración de los caquis astringentes (A, III/V) en los tratamientos de APH (Tablas A.23, A.24, A.27, A.28 del Anexo), en el **RIA** se observa que tanto la DA como la CRA no parecen estar condicionadas por el estado de maduración. Todo lo contrario se observa en la MCG, ya que los frutos de maduración V son los que exhiben el valor más alto de MCG, y por lo tanto, son los que proporcionan RIAs con menor capacidad de formar geles. Por otra parte, el valor de la CRAc, así como el de las propiedades de hidratación CAA y CH, parecen estar condicionados por el estado de maduración cuando se aplican tratamientos de 200 MPa, encontrando valores significativamente más elevados en los caquis de maduración III.

En relación al **liofilizado**, la aplicación de un mismo tratamiento de APH a caquis astringentes de distinta maduración (A, III/V) muestra resultados diferentes a los constatados en el RIA. En este sentido, cabe destacar que la MCG no cambia significativamente con el estado de maduración de los caquis, contrario a lo observado en las propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH) y en la CRAc.

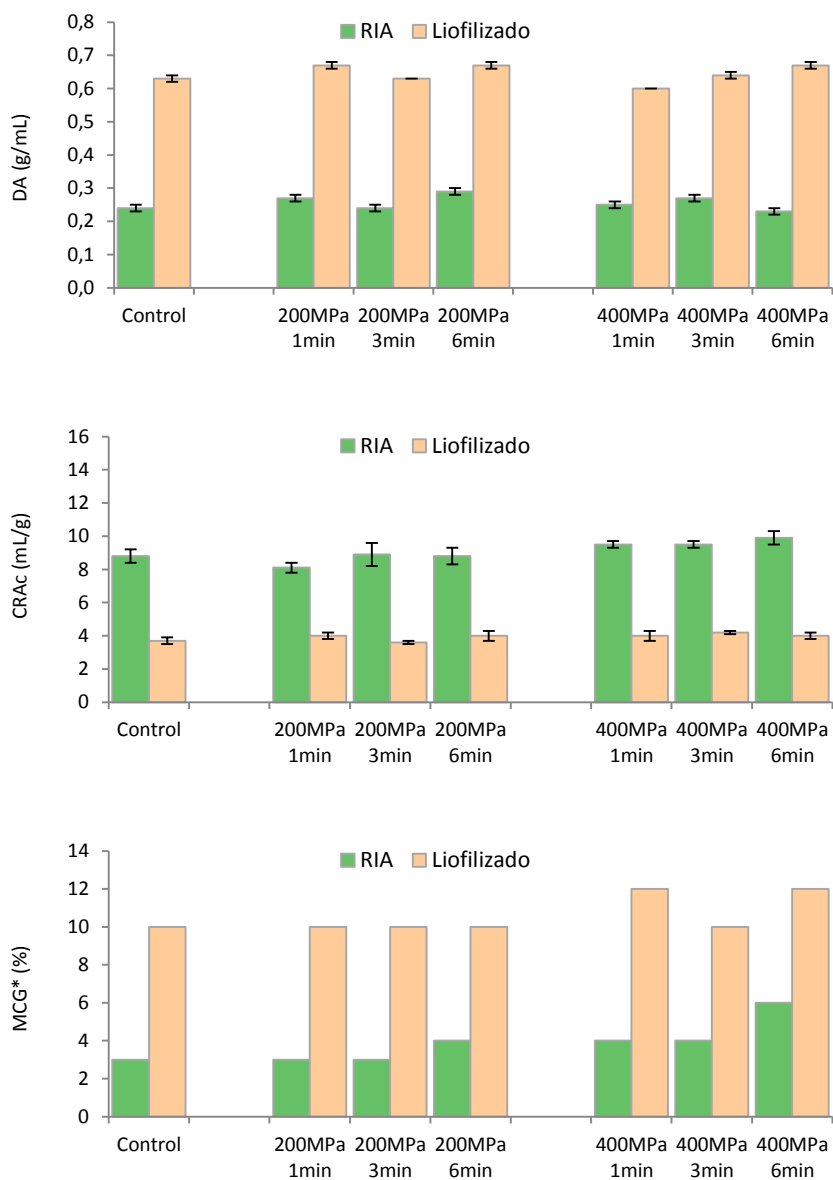


Figura 67. Efecto de las APH sobre la DA, CRAC y MCG en caquis astringentes de maduración V.

*No se incluye barra de error por la naturaleza del ensayo analítico.

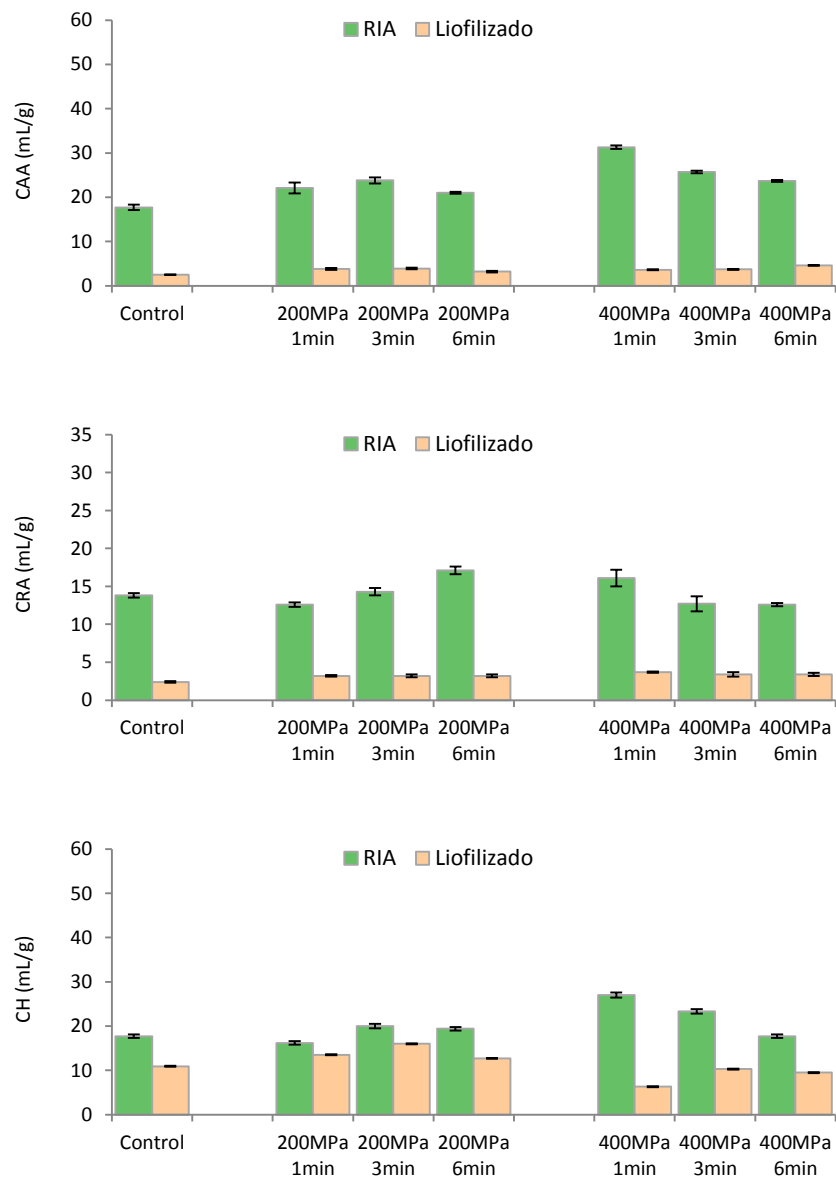


Figura 68. Efecto de las APH sobre las propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH) en caquis astringentes de maduración V.

En resumen, en los caquis astringentes de maduración V las APH tienden a mejorar las propiedades de hidratación del RIA respecto al control (A-C, V), pero reducen la capacidad de gelificación. El efecto sobre las propiedades tecnológicas del liofilizado es similar. Además, el estado de maduración de los caquis astringentes parece condicionar la funcionalidad tecnológica que van a tener los materiales (RIA y liofilizado) tratados con APH. En concreto, tanto RIA como liofilizado de caquis astringentes de maduración III tratados con 200 MPa muestran mejores características de CRAC, CAA y CH.

- **Caquis no astringentes de maduración V (NA, V)**

Tratamientos de APH frente al control

Las propiedades tecnológicas del **RIA** de los caquis no astringentes de maduración V se muestran en las Figuras 69 y 70 (Tablas A.29 y A.30 del Anexo). A la vista de los resultados, se constata que ninguno de los tratamientos de APH cambia significativamente la densidad aparente respecto al caqui control (NA-C, V). El resto de las propiedades se modifican de manera significativa cuando se aplica alguno de los tratamientos de APH. En este sentido, la capacidad de formación de geles es la propiedad más estable frente a la presurización. La capacidad de retención de aceite aumenta al someter los caquis a 400 MPa/1 min y a cualquiera de los tres tratamientos de 200 MPa. En relación a las propiedades de hidratación, también predominan valores significativamente más elevados cuando se aplican tratamientos de APH, encontrando que al someter los caquis a 200 MPa/1-6 min y 400 MPa/1 min la capacidad de hinchamiento se reduce de manera significativa. Cabe destacar que el tratamiento de 200 MPa/3 min es el único que incrementa significativamente respecto al control (A-C, V) todas las propiedades de hidratación.

En las Figuras 69 y 70 (Tablas A.29 y A.30 del Anexo) también se muestran las propiedades tecnológicas del **liofilizado**, constatando en comparación con el control (NA-C, V) que ninguno de los tratamientos de APH aplicados modifica significativamente la capacidad de retención de aceite. Las demás propiedades pueden cambiar mediante los tratamientos de APH que se indican a continuación. La capacidad de formar geles que presenta el liofilizado se reduce cuando los caquis se someten a 400 MPa/1 y 3 min. El tratamiento 400 MPa/3 min, además de aumentar la MCG, reduce la capacidad de retención de agua, propiedad que también disminuye cuando la exposición de los caquis a la presión de 400 MPa se prolonga a 6 min.

Finalmente, si bien la capacidad de hinchamiento exhibe valores significativamente distintos en comparación con el control (NA-C, V) al aplicar tratamientos de 200 y 400 MPa, la capacidad de absorción de agua sólo muestra cambios al aplicar 200 MPa.

Los resultados de este estudio (RIA y liofilizado) sobre caquis no astringentes de maduración V tratados con APH (NA, V) muestran CRAc (4-14 mL/g) semejantes a los niveles de CRAc (1-15 mL/g) de otros materiales ricos en fibra alimentaria (Garau y col., 2007; Femenia y col., 2009; de Moraes Crizel y col., 2013; Wang y col., 2015). Además, se observa que las propiedades de hidratación como CRA (3-19 mL/g) son similares a las mostradas por otros materiales vegetales, mientras que las CHs obtenidas (4-31 mL/g) son inferiores a las encontradas en la literatura (Guillon y col., 2000; Figuerola y col., 2005; Femenia y col., 2009; Kosmala y col., 2013; Basanta y col., 2014; Wang y col., 2015).

Efecto eliminación de la astringencia en maduración V

La comparación de estos caquis no astringentes tratados con APH (NA, V) con sus correspondientes caquis astringentes (A, V), pone de manifiesto que, en lo que respecta a la funcionalidad tecnológica del **RIA**, se alcanzan valores de DA similares independientemente de la astringencia de los caquis. Por el contrario, se observa que tanto la CRAc como las propiedades de hidratación muestran valores más elevados cuando los caquis son no astringentes (NA, V). Sin embargo, en el **liofilizado** las propiedades de hidratación cuantificadas muestran valores más elevados en los caquis astringentes (A, V).

Efecto maduración en caquis no astringentes

Cuando los caquis de maduración V tratados con APH (NA, V) se comparan con los caquis de maduración III (NA, III), los resultados obtenidos en el **RIA** ponen de manifiesto que aplicar APH tiene el mismo efecto sobre la DA independientemente de que el caqui tenga maduración III ó V. Sin embargo, el efecto que las APH ejercen en el resto de las propiedades se puede ver influenciado por el estado de maduración de los caquis. Cabe destacar que la aplicación de APH a caquis (NA, V) conlleva una reducción tanto de la capacidad de gelificación como de las propiedades de hidratación. En el caso del material **liofilizado**, no sólo la DA sino también la MCG son independientes del estado de maduración de los caquis, mientras que las propiedades de hidratación están más condicionadas por la combinación presión/tiempo aplicada que por el estado de maduración.

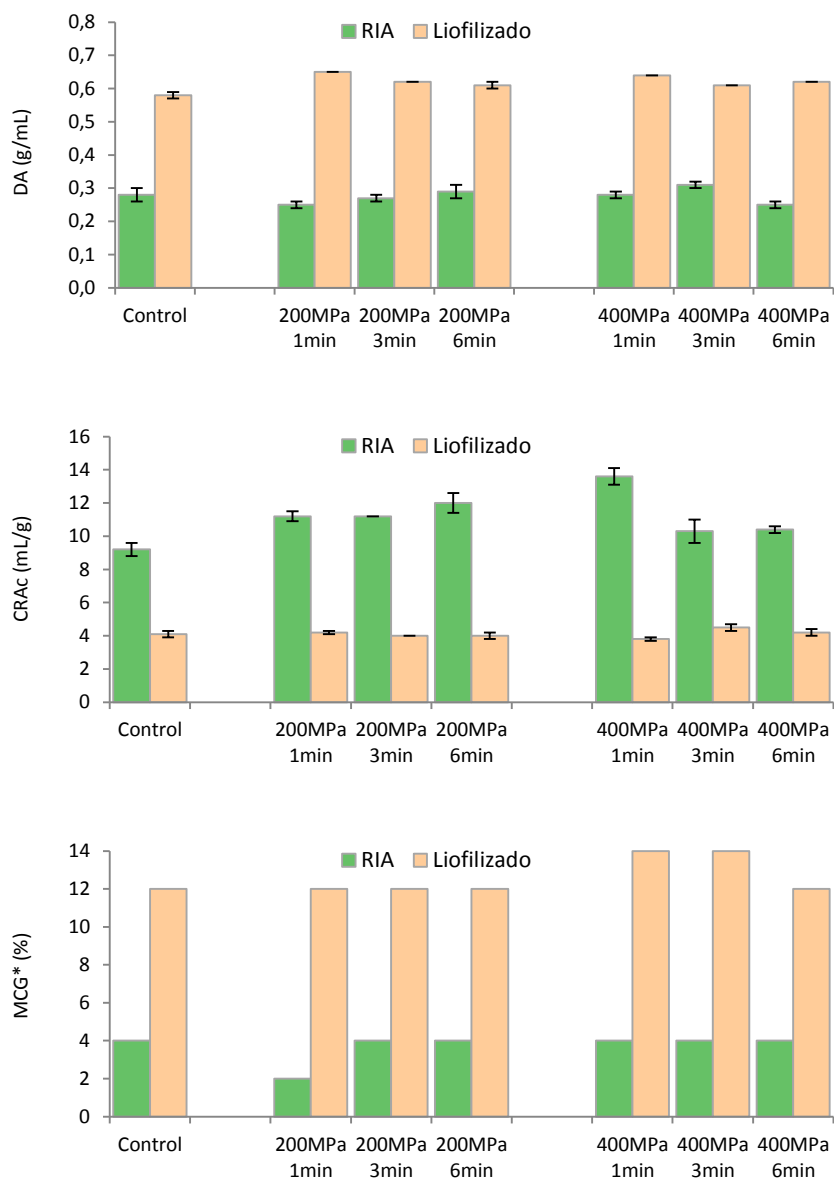


Figura 69. Efecto de las APH sobre la DA, CRAC y MCG en caquis no astringentes de maduración V. *No se incluye barra de error por la naturaleza del ensayo analítico.

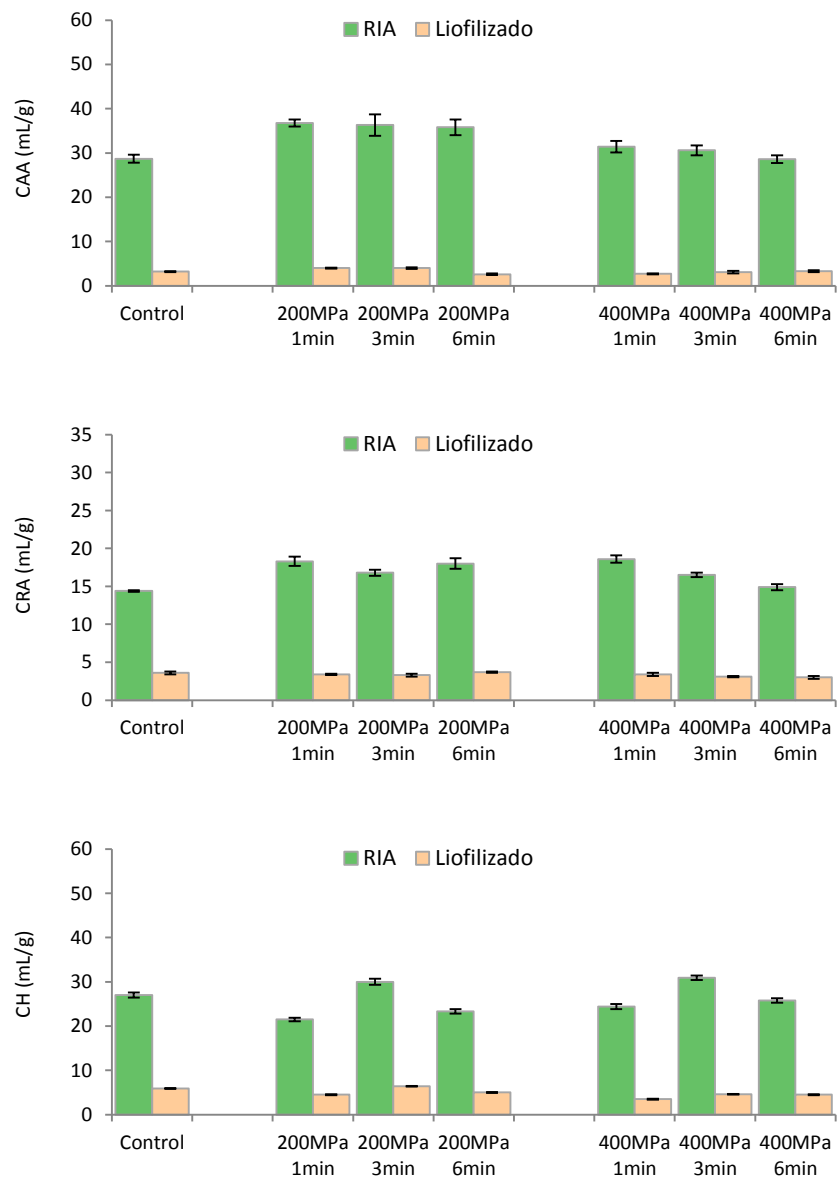


Figura 70. Efecto de las APH sobre las propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH) en caquis no astringentes de maduración V.

En definitiva, en los caquis no astringentes de maduración V, los cambios que las APH provocan en las propiedades del RIA quedan reflejados en la obtención de un residuo insoluble en alcohol de características tecnológicas mejoradas; sólo la CH se reduce con alguno de los tratamientos de APH. La comparación de caquis de maduración V y distinta astringencia (A/NA, V) revela que el factor astringencia condiciona la funcionalidad tanto del RIA como del liofilizado, destacando que las propiedades de hidratación del RIA tienden a mejorar si previamente se ha eliminado la astringencia, mientras en el liofilizado estas propiedades son mejores en caquis astringentes (A, V).

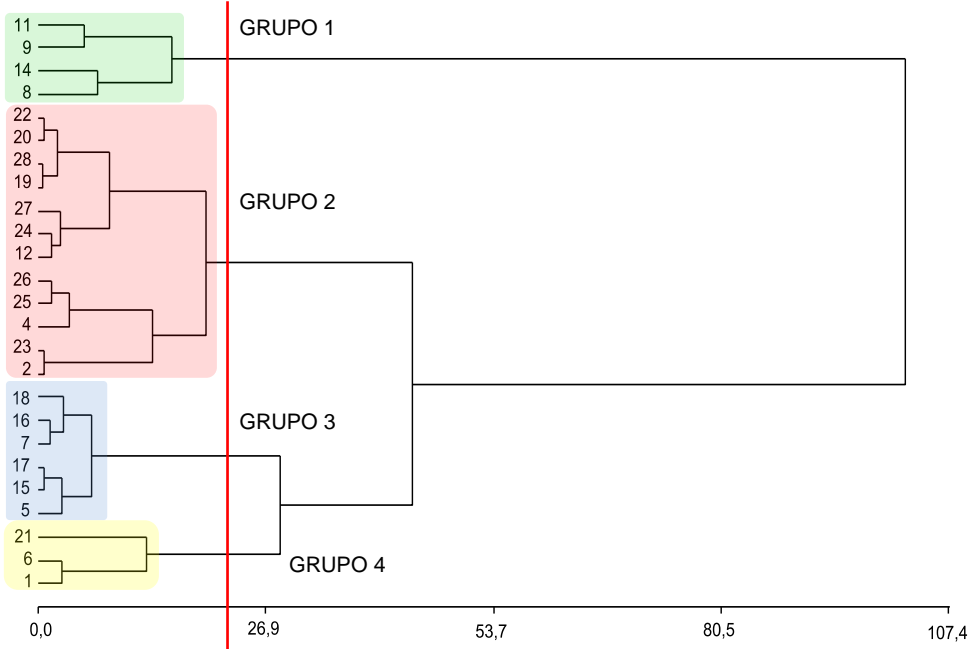
- **Análisis Multivariante**

El análisis multivariante realizado a partir de todas las propiedades tecnofuncionales ensayadas en el RIA proporciona un dendrograma de cuatro conglomerados (grupos 1, 2, 3 y 4) con 4, 12, 6 y 3 muestras, respectivamente (Figura 71).

El **grupo 1** se caracteriza por agrupar muestras que presentan las **propiedades de hidratación más elevadas** y la mayor **facilidad para formar geles**. Las muestras de este grupo son **no astringentes de maduración III**, encontrándose el **control y algunos tratamientos de APH (200 MPa/1-6 min y 400 MPa/6 min)**.

El **grupo 2**, que es el mayoritario, presenta **propiedades de hidratación relativamente altas** aunque algo más deficientes que las mostradas en el grupo 1, acompañadas por la **capacidad de gelificación más baja**. En este conglomerado destaca la presencia de todas las muestras **no astringentes de maduración V**, así como de **caquis astringentes de maduración III sometidos a 200 MPa/1-6 min y 400 MPa/1 min**.

Los dos conglomerados restantes (grupos 3 y 4) presentan características tecnológicas similares; sólo se diferencian en densidad aparente y formación de geles, siendo las muestras del **grupo 4** las más porosas y las que gelifican peor. Además, estos grupos destacan por contener muestras con **propiedades de hidratación relativamente más bajas**, lo que implica una interacción menos favorable con el agua. En el **grupo 3** se agrupan principalmente caquis **astringentes de maduración V (control y tratamientos de 200 MPa)**, mientras que en el **grupo 4** se encuentran caquis **astringentes tanto de maduración III (control y 400 MPa/3 min) como V (400 MPa/6 min)**.



Valor medio de las variables en cada grupo						
Conglomerado	DA	CRAc	MCG	CAA	CRA	CH
1	0,25	11,3	2	44,9	24,2	38,0
2	0,27	10,8	4	33,2	16,5	26,5
3	0,27	8,9	3	21,8	14,0	19,2
4	0,20	10,9	4	23,8	14,7	17,5

Figura 71. Dendrograma conjunto de las propiedades tecnofuncionales (DA, CRAc, MCG, CAA, CRA y CH) del RIA. Cuatro conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado. Estandarización: puntuaciones Z. Según K-medias la muestra 5 está en el grupo 2, y la muestra 20 está en el grupo 3. La tabla “Valor medio de las variables en cada grupo” recoge estas modificaciones.

• Conclusiones parciales

A la vista de los resultados obtenidos en los cuatro bloques de caquis, clasificados según maduración y astringencia, y sometidos a tratamientos de APH con distintas condiciones de presión y tiempo, se establecen las siguientes consideraciones: (i) el residuo insoluble en alcohol es un material con características más favorables que el liofilizado de caqui para retener agua/aceite y formar geles; (ii) los valores de las propiedades tecnofuncionales de las muestras liofilizadas no aportan información

discriminatoria sobre en qué tipo de caqui (A, III; NA, III; A, V; NA, V) resulta más eficaz la aplicación de APH; (iii) por el contrario, el RIA de estos diferentes tipos de caquis revela claras tendencias en las propiedades tecnológicas que muestran dichos materiales.

En general, se constata que todos los residuos insolubles en alcohol de caquis muestran densidades aparentes similares, acompañadas por valores de CRAc que tampoco varían, lo que corrobora la intrínseca correlación entre ambas propiedades. Sin embargo, las propiedades de hidratación parecen verse desfavorecidas en el caso de caquis astringentes tanto de maduración III (control; 400 MPa/3 y 6 min) como de maduración V (control y APH), encontrándose las mejores características de retención, absorción e hinchamiento en caquis no astringentes de maduración III. Finalmente, en relación a la propiedad de gelificación, también son los caquis no astringentes de maduración III (NA, III) los que presentan mayor facilidad de formar geles. Las anteriores conclusiones vienen ratificadas por el dendrograma obtenido al realizar el análisis multivariante.

Los caquis no astringentes de maduración III se pueden considerar como los frutos que parecen proporcionar los RIAs con las mejores propiedades tecnofuncionales, que podrían ser utilizados como ingredientes alimentarios para mejorar la textura, modificar la viscosidad y aportar propiedades gelificantes, así como de retención de agua. No obstante, en lo que respecta a la mejora de la estabilización de emulsiones, retención de componentes volátiles, así como sustitución de parte de la grasa de un alimento, probablemente podría utilizarse cualquiera de las muestras de RIA de este estudio, ya que, en general, todas presentan valores similares de capacidad de retención de aceite.

CAPÍTULO 2: EFECTO DE LOS TRATAMIENTOS COMBINADOS DE ALTAS PRESIONES HIDROSTÁTICAS-TEMPERATURA

Del estudio realizado para evaluar el efecto que los tratamientos de APH tienen sobre los frutos de caqui, se seleccionaron las muestras de astringencia, maduración y combinación presión/tiempo que parecían mejorar la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos (carotenoides, flavonoides), según los resultados obtenidos por los tres grupos de investigación implicados en el proyecto AGL2008-04798-C02-01/ALI *“Mejora de la funcionalidad de los compuestos bioactivos de tejidos vegetales mediante la aplicación de altas presiones: estudios químicos, microestructurales y nutricionales”* en el que se enmarca este trabajo de investigación. En relación a la astringencia, los caquis astringentes parecen ser más adecuados para someterlos a APH porque, si bien tras aplicar APH los contenidos de taninos solubles son similares en caquis astringentes y no astringentes, los taninos solubles parecen estar más accesibles en los caquis astringentes, según ponen de manifiesto Vázquez-Gutiérrez y col. (2011, 2012a, 2012b). Asimismo, la mayor extractabilidad de carotenoides constatada por Plaza y col. (2012) en caquis astringentes tratados con APH indica que los frutos astringentes son los más apropiados para tratar con APH. Por otra parte, atendiendo al estado de maduración, se seleccionó el grado de maduración III porque, además de mostrar los mayores incrementos de carotenoides respecto al correspondiente control (Plaza y col., 2012), se observó que el tejido de partida no estaba tan degradado desde el punto de vista microestructural (Vázquez-Gutiérrez y col., 2011, 2012a, 2012b). Finalmente, en lo que respecta a los tratamientos de APH, las combinaciones presión/tiempo elegidas fueron 200 MPa/3 y 6 min, descartando así los tratamientos de 400 MPa por no provocar incrementos en la extractabilidad de carotenoides y degradar mucho las paredes y membranas celulares.

Por lo tanto, teniendo en cuenta que el objetivo principal del proyecto anteriormente citado consistía en conocer los cambios que ocurren en la bioaccesibilidad de compuestos bioactivos (ej. carotenoides) cuando se aplican APH a los frutos de caqui, se consensuó seleccionar los caquis astringentes de maduración III sometidos a 200 MPa/3 y 6 min. Así, en estas muestras se estudió el efecto que la temperatura del tratamiento de APH tiene sobre: los contenidos de fibra alimentaria y RIA, las actividades enzimáticas PME y PG, el grado de metilesterificación y las propiedades tecnofuncionales. No obstante, según ha quedado reflejado en el apartado 6 del Capítulo 1, atendiendo a los objetivos fijados en este trabajo podría haber sido

interesante realizar una selección diferente de muestras, lo cual podría ser objeto de futuras investigaciones.

1. FIBRA ALIMENTARIA Y RIA

En relación a los contenidos de fibra total (FT), RIA, y fracciones insoluble (FI) y soluble (FS) de la fibra alimentaria, la Figura 72 muestra que la aplicación de 200 MPa a 37°C en lugar de a 25°C reduce significativamente los niveles de FT, RIA y FI, alcanzando las mayores reducciones cuanto mayor es la duración del tratamiento de APH (6 min).

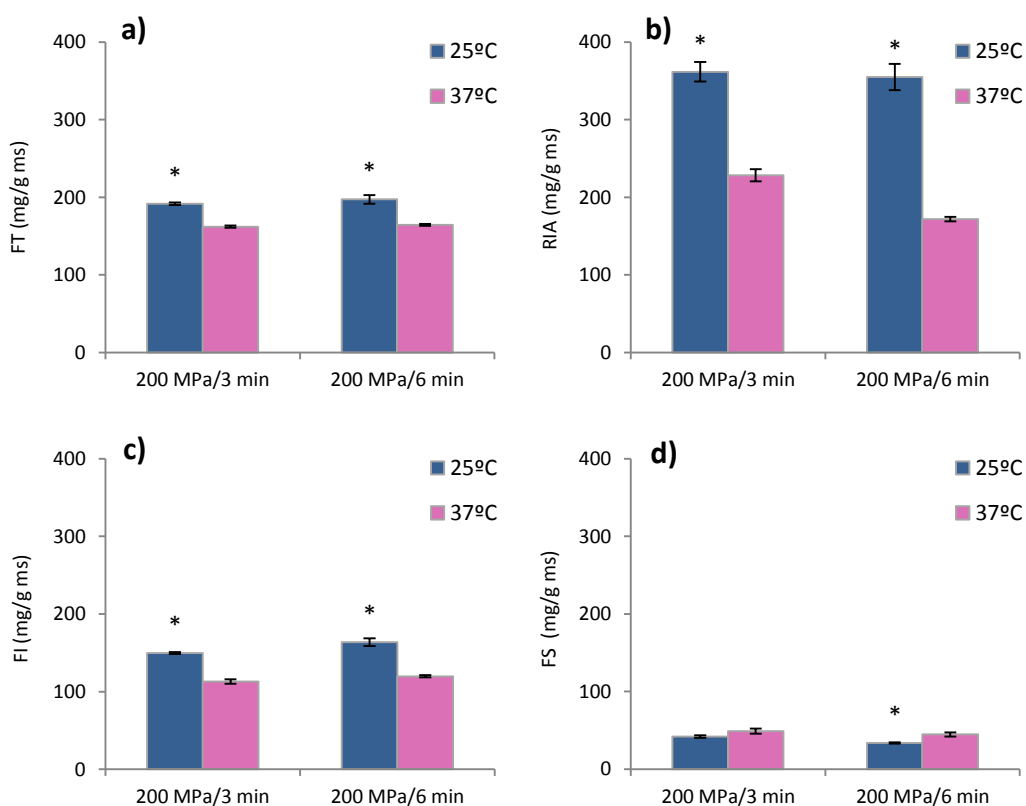


Figura 72. (Contenidos de: (a) fibra total (FT), (b) residuo insoluble en alcohol (RIA), (c) fibra insoluble (FI) y (d) fibra soluble (FS) en caquis astringentes de maduración III tratados con APH. Efecto de los tratamientos combinados de APH-temperatura: diferencias entre muestras con igual combinación presión/tiempo, pero distinta temperatura de tratamiento (25 ó 37°C); Test-T; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

No obstante, el efecto que tiene incrementar la temperatura hasta 37°C es distinto cuando se atiende a la FS, ya que en el caso de 200 MPa/3 min no se constatan diferencias significativas entre los tratamientos de 25 y 37°C, pero sí a 200 MPa/6 min, condiciones que aumentan de manera significativa el contenido de FS en un 33% cuando la temperatura se eleva a 37°C. Por lo tanto, el efecto que la aplicación de 200 MPa a 37°C ejerce sobre los contenidos de RIA y fibra alimentaria es mayor al prolongar hasta 6 min la duración del tratamiento de APH.

2. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS Y GM

La aplicación de 200 MPa a 37°C disminuye o aumenta significativamente la actividad de la enzima PME respecto a aplicar las APH a 25°C, dependiendo de la duración del tratamiento (Figura 73a); la enzima PME se inactiva en un 60% cuando el tiempo de exposición a la presión es de 3 min, pero aumenta su actividad en un 26% cuando el tiempo es de 6 min.

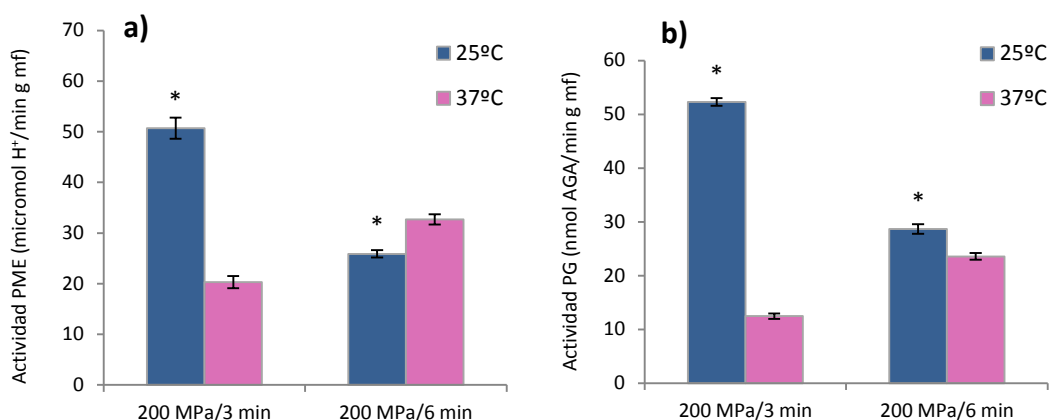


Figura 73. Actividad de las enzimas PME (a) y PG (b) en caquis astringentes de maduración III tratados con APH. Efecto de los tratamientos combinados de APH-temperatura: diferencias entre muestras con igual combinación presión/tiempo, pero distinta temperatura de tratamiento (25 ó 37°C); Test-T; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

En lo que respecta a la enzima PG, la Figura 73b pone de manifiesto que al someter los caquis a tratamientos de APH a 37°C la enzima PG se inactiva respecto a los tratamientos de APH a 25°C, siendo el descenso de actividad enzimática más acusado cuando la duración del tratamiento es de 3 min (reducción del 76%). Los resultados

obtenidos también muestran que cuando la temperatura del tratamiento de APH es de 37°C, incrementar el tiempo de exposición a la presión favorece la acción de las enzimas, y que la actividad de la enzima PG del caqui no parece estar condicionada a la acción de la enzima PME, al menos para un tiempo de 6 min, donde el aumento de actividad PME va acompañado por un descenso de la actividad PG.

En general, estos resultados difieren de los obtenidos por Verlent y col. (2007) en estudios realizados en tomate, donde se observa que al aplicar 200 MPa las actividades PME y PG aumentan al incrementar la temperatura del tratamiento, siempre que ésta no sea mayor a 50-60°C. En este sentido, las diferencias entre las actividades obtenidas para caqui y tomate podrían deberse a la duración del tratamiento de APH, ya que en el estudio de tomate (Verlent y col., 2007) el tiempo se fija en 20 min, lo que indicaría que aumentar el tiempo podría favorecer la acción de las enzimas PME y PG, corroborando así la mayor actividad PME obtenida a 6 min y 37°C respecto al tratamiento de igual tiempo pero temperatura de 25°C. El tiempo del tratamiento de APH probablemente sea un factor importante cuando se pretenden obtener diferencias respecto a los tratamientos aplicados a 25°C. No obstante, Polydera y col. (2004) encontraron que a 250 MPa, con un intervalo de 30 a 60°C, el aumento de la temperatura provoca reducciones de la actividad de la PME en zumo de naranja; tendencia similar a la observada por Bodelón y col. (2013), que constataron descensos de actividad PME al presurizar muestras de fresa a 50°C en lugar de a 20°C, lo que confirmaría los resultados obtenidos en caqui para los tratamientos de 3 min.

Por lo tanto, a 200 MPa el aumento de la temperatura a 37°C tiene un efecto sobre las enzimas PME y PG más acusado a 3 min que a 6 min, provocando reducciones de las actividades PME y PG en los tratamientos más cortos. Sin embargo, la elección del tratamiento deberá quedar condicionada al uso que se le pretenda dar al fruto; así, aplicar 200 MPa/6 min a 37°C en vez de a 25°C podría resultar interesante para mantener la firmeza del fruto entero, ya que se favorecería la acción de la PME al tiempo que se inactivaría parte de la actividad PG constatada en el caqui tratado a 25°C. Por el contrario, el tratamiento 200 MPa/3 min a 37°C resultaría adecuado para elaboraciones de frutas trituradas y zumos, por la menor actividad PME constatada respecto al mismo tratamiento de APH aplicado a 25°C.

Por otra parte, en relación al grado de metilesterificación de los polisacáridos pécticos, en la Figura 74 se pone de manifiesto que la aplicación de 200 MPa/3 min provoca un incremento significativo del GM, que podría ser debido a la menor actividad de la

enzima PME observada en esta muestra. No obstante, al tratar los caquis con 200 MPa/6 min el GM disminuye respecto a los frutos tratados a 25°C, lo que parece corresponderse con el aumento de actividad PME encontrado en muestras sometidas a 200 MPa/6 min a 37°C.

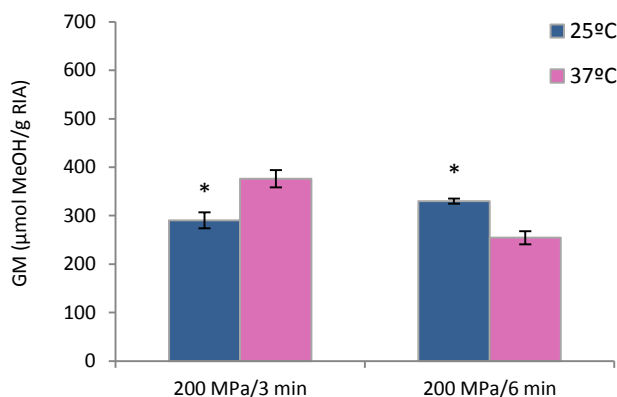


Figura 74. Grado de metilesterificación (GM) en caquis astringentes de maduración III tratados con APH. Efecto de los tratamientos combinados de APH-temperatura: diferencias entre muestras con igual combinación presión/tiempo, pero distinta temperatura de tratamiento (25 ó 37°C); Test-T; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Finalmente, en relación a las **propiedades tecnofuncionales** de estas muestras, los resultados ponen de manifiesto que incrementar la temperatura a 37°C no implica cambios destacados.

- **Conclusiones parciales**

El aumento de la temperatura en el tratamiento de APH revela una solubilización de los niveles de FT, RIA y FI a 37°C, siendo mayor cuando la exposición a APH es de 6 min; y provoca el consiguiente aumento de la fracción de FS.

Los tratamientos de APH a 37°C tienen efectos sobre las enzimas PME y PG, de manera que se observan reducciones de las actividades PME y PG en los tratamientos más cortos acompañados por un incremento significativo del GM, que podría ser posiblemente debido a la menor actividad de la enzima PME observada en estas muestras.

CAPÍTULO 3: ALMACENAMIENTO EN REFRIGERACIÓN

Estudiar cómo afecta el almacenamiento en condiciones de refrigeración (4°C) a los caquis procesados con APH resulta de interés para evaluar la vida útil de estos frutos. Este estudio se realiza en el mismo tipo de muestras utilizadas para evaluar el efecto de los tratamientos combinados de APH-temperatura; caquis astringentes de maduración III tratados con 200 MPa/3-6 min/37°C.

Se debe tener en cuenta que, para conocer tanto el efecto del almacenamiento como el efecto de los tratamientos de APH, la discusión de resultados se realiza de la siguiente forma: primero se comenta cómo influye el almacenamiento a 4°C a lo largo de un periodo de 28 días sobre cada una de las muestras (control, 200/3, 200/6) y, a continuación, se establecen los resultados obtenidos para el caqui control (A-C, III) y los caquis tratados con APH (A-200 MPa/3 y 6 min/37°C, III) al fijar el día de almacenamiento (D0, D7, D14, D21 ó D28).

1. FIBRA ALIMENTARIA

La Figura 75 (Tabla A.31 del Anexo) recoge los resultados de fibra alimentaria obtenidos a lo largo del almacenamiento a 4°C del caqui control (A-C, III) y de los caquis tratados con APH (A-200 MPa/3 y 6 min/37°C, III). En el caqui control (A-C, III), tanto la fibra total (FT) como las fracciones de fibra insoluble (FI) y soluble (FS) no muestran cambios significativos a lo largo del tratamiento de 28 días de refrigeración; resultados similares a los obtenidos por Dong y col. (2008) en naranja. La fracción de fibra mayoritaria es la FI, que alcanza entre el 67-70% del total, mientras que la FS supone un 30-33%, lo cual conduce a relaciones FS:FI próximas a 1:2.

Cuando los caquis se han tratado con APH, y con independencia de que la duración del tratamiento haya sido de 3 ó 6 min, se siguen observando tendencias similares a la obtenida para el control (A-C, III), en relación a los contenidos de FT y FI. Sin embargo, el perfil de los niveles de FS durante el almacenamiento a 4°C es distinto al del caqui control, ya que la aplicación de los tratamientos de APH conduce a reducciones significativas de la fracción soluble de la fibra (FS) a lo largo de la refrigeración; la combinación 200 MPa/3 min provoca una reducción del 39% en el contenido de FS tras 7 días de refrigeración y, posteriormente, este nivel de FS se mantiene estable hasta el final del estudio (D28), mientras que la aplicación de 200

MPa/6 min ocasiona descensos del 40% cuando han transcurridos 7 y 21 días de almacenamiento (D7 y D21).

Por otra parte, atendiendo a cómo cambia la fibra alimentaria entre el control (A-C, III) y las muestras tratadas con APH al fijar el día de refrigeración, los resultados obtenidos revelan que, en lo que respecta a la FT, sólo se constatan diferencias significativas entre las tres muestras para el primer día de muestreo (D0), ya que transcurridos 7, 14, 21 y 28 días de almacenamiento a 4°C los contenidos de FT del control (A-C, III) y de las muestras tratadas con APH son similares. El primer día de muestreo (D0) los caquis tratados con APH presentan los mayores contenidos de FT, con valores más elevados que los del caqui control (A-C, III); incrementos del 7 y 9% para los tratamientos de 3 y 6 min, respectivamente. De este modo, y en comparación con los resultados de fibra comentados en el apartado 1 del Capítulo 1, se pone de manifiesto que al aumentar la temperatura del tratamiento de APH de 25 a 37°C el nivel de fibra total se incrementa significativamente respecto al control (A-C, III).

Sin embargo, tanto en la fracción de FI como en la FS se constatan contenidos distintos al fijar el día de muestreo y comparar entre sí los resultados del control y de los caquis tratados con APH. En concreto, en la FI destaca que durante las cuatro semanas que dura el estudio el contenido más bajo de fibra insoluble se cuantifica en el control (A-C, III), encontrando los valores significativamente más elevados en los caquis tratados con 200 MPa/6 min, de manera que en las muestras sometidas a APH, la FI puede llegar a contribuir hasta el 83% del contenido de fibra total, lo que conlleva que la relación FS:FI llegue a ser de 1:5. Por el contrario, en lo relativo a la FS se pone de manifiesto que sólo el día D0 se logran contenidos similares de fibra soluble en el control (A-C, III) y en las muestras tratadas con APH. La refrigeración reduce significativamente el contenido de FS de los frutos tratados con APH, encontrando niveles de esta fracción significativamente más altos en el caqui control (A-C, III) durante todo el periodo de refrigeración. Si los resultados se expresan en materia fresca (Tabla A.32 del Anexo), se llega a conclusiones similares a las realizadas en materia seca.

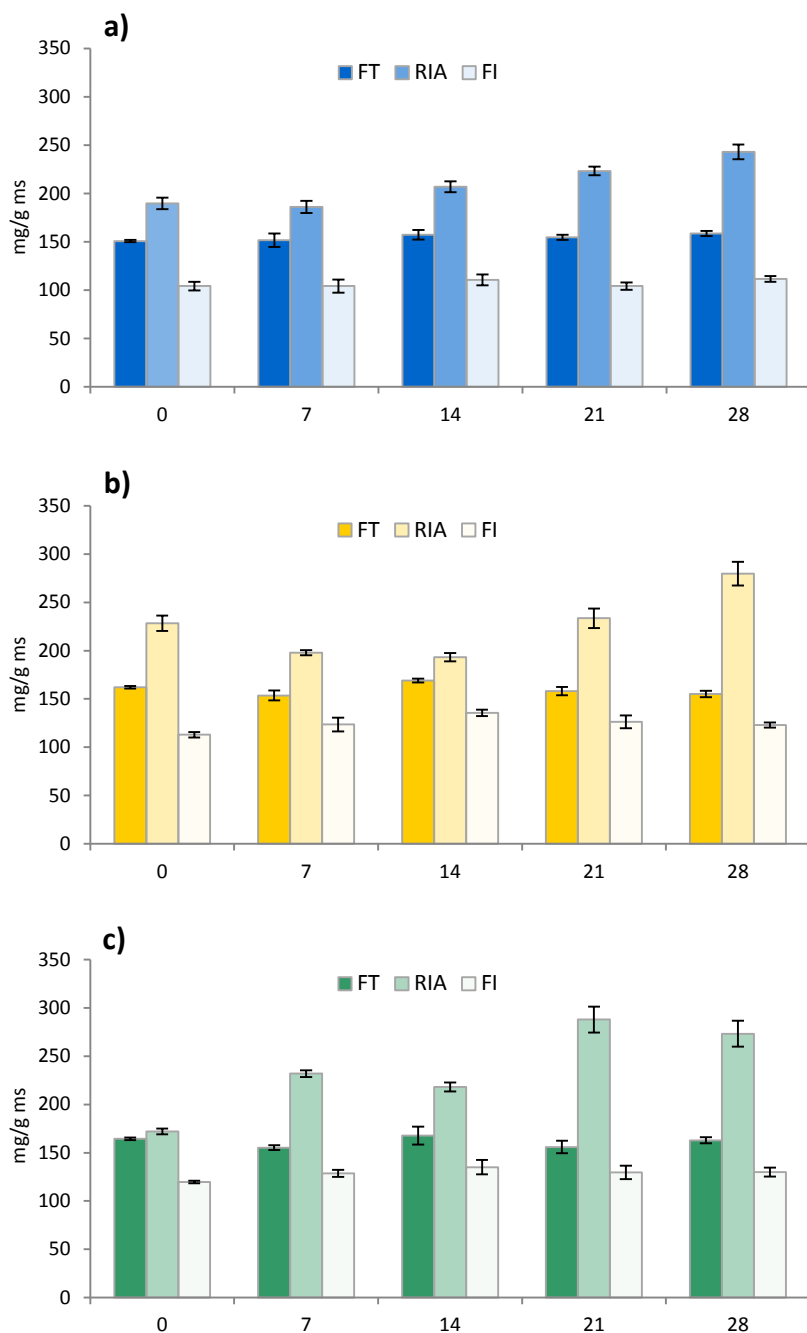


Figura 75. Contenidos de fibra total (FT), residuo insoluble en alcohol (RIA) y fibra insoluble (FI) en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C entre 0 y 28 días. (a) Control, (b) 200 MPa/3 min, (c) 200 MPa/6 min. Tratamientos de APH a 37°C.

En definitiva, el almacenamiento a 4°C de caquis astringentes de maduración III sólo provoca cambios en los contenidos de fibra soluble de los caquis sometidos a 200 MPa/3 y 6 min a 37°C. La fibra total y la fibra insoluble no muestran variaciones a lo largo de 28 de refrigeración, con independencia de que al fruto se le hayan aplicado o no APH. Para un día de refrigeración determinado, las muestras tratadas con APH tienden a presentar los mayores contenidos de FI y los niveles más bajos de FS, no observando diferencias entre estas muestras y el control en lo que respecta a la FT.

2. RESIDUO INSOLUBLE EN ALCOHOL

En la Figura 75 (Tabla A.31 del Anexo) se recogen los contenidos del residuo insoluble en alcohol (RIA) del caqui control y de los caquis tratados con APH (A-200 MPa/3 y 6 min/37°C, III) que han permanecido almacenados a 4°C durante un periodo de 28 días. Destaca que en todas las muestras el contenido de RIA siempre es mayor que el de la FT.

En primer lugar, atendiendo a la muestra control (A-C, III), se constata que el contenido de RIA se mantiene sin variaciones hasta el día 14 de refrigeración. A partir de ese momento, prolongar el periodo de almacenamiento incrementa significativamente el nivel de RIA respecto al primer día de muestreo (C-D0), alcanzando al final del estudio 243 mg/g ms (incremento del 28%).

Incrementos en el contenido de RIA indican menor grado de solubilización de la pared celular, aspecto que también observaron Cao y col. (2010) durante el almacenamiento en refrigeración (1°C) de nísperos. Este aumento del contenido de RIA puede ser debido a que: (a) durante la refrigeración la síntesis de pared celular es más rápida que su degradación (Cao y col., 2009), y/o (b) las actividades PME y PG no están equilibradas (Cao y col., 2010), lo que puede conllevar exceso de matriz péctica desesterificada sin la consiguiente despolimerización (Zhou y col., 2000). En relación a esto, cabe indicar que el hecho de que durante la refrigeración del caqui (A-C, III) pueda existir tanto degradación como síntesis de pared celular, podría estar asociado con el desarrollo de daños por frío, tal y como constataron Mao y Zhang (2001) al realizar un estudio en melocotón. En este contexto se debe tener en cuenta que, a la vista de los resultados obtenidos por Vázquez-Gutiérrez (2012a) en relación a la firmeza de los caquis almacenados a 4°C, a diferencia de lo que ocurre en nísperos (Cao y col., 2010) en el caqui los daños por frío se manifestarían con una reducción de firmeza, no con un incremento.

En cambio, cuando los caquis se han sometido a APH se obtiene un perfil distinto al conseguido en el caqui control (A-C, III); el tratamiento 200 MPa/3 min ocasiona un descenso significativo en los caquis tras 7 y 14 días de refrigeración, alcanzando el 15% de reducción en el día D14, posteriormente, el contenido de RIA aumenta hasta 280 mg/g ms al final del estudio (D28). Y cuando el tratamiento de APH se prolonga durante 6 min, parece que el almacenamiento a 4°C incrementa el contenido de RIA desde el primer día de refrigeración, ya que transcurridos 7 días (D7) el valor del RIA aumenta en un 35%, mientras que al final del periodo a 4°C (D28) el contenido de RIA observado es un 59% más elevado que el del día D0.

Por otra parte, al fijar el día de almacenamiento y comparar entre sí el contenido de RIA del control (A-C, III) y de las muestras tratadas con APH, se observa que el día D0 el caqui control (A-C, III) muestra 190 mg/g ms, valor intermedio al que presentan los caquis tratados con APH. La aplicación de 200 MPa/3 min a 37°C incrementa significativamente (20%) el contenido de RIA del control (A-C, III), mientras que el tratamiento de 6 min provoca una reducción significativa (9%) del nivel de RIA. Por lo tanto, teniendo en cuenta los contenidos de RIA del apartado 2 del Capítulo 1, se pone de manifiesto que incrementar la temperatura del tratamiento de APH de 25°C a 37°C parece ocasionar incrementos del nivel de RIA respecto al control (A-C, III) sólo cuando la duración del tratamiento es de 3 min. Asimismo, transcurridos 7, 14 y 21 días en refrigeración se observa que los contenidos de RIA significativamente más elevados se encuentran en la muestra sometida a 200 MPa/6 min obteniendo, en general, niveles de RIA significativamente menores e iguales entre sí en los caquis tratados con 200 MPa/3 min y en el control (A-C, III).

Finalmente, el último día de muestreo (D28) se cuantifican contenidos de RIA similares tanto en el control (A-C, III) como en las muestras tratadas con APH (265,3 mg/g ms, valor medio). Si los resultados se expresan en materia fresca (Tabla A.32 del Anexo), se llega a conclusiones similares a las realizadas en materia seca.

En resumen, la refrigeración de caquis astringentes de maduración III incrementa el contenido de RIA a partir del día 14 de almacenamiento. El tratamiento 200 MPa/3 min/37°C provoca una reducción del nivel de RIA tras 7 días de refrigeración, si bien a partir del día 14 de almacenamiento se constata una tendencia al incremento similar a la observada en el control. En lo que respecta a la aplicación de 200 MPa/6 min/37°C, este tratamiento parece generar un aumento progresivo del contenido de RIA a lo largo de 28 días de refrigeración. Al fijar el día de refrigeración, destaca que tras 7, 14 y

21 días de almacenamiento los caquis tratados con APH durante 6 min son los que muestran los mayores contenidos de RIA.

3. ACTIVIDADES ENZIMÁTICAS

Actividad Pectinmetilesterasa (PME)

La Figura 76 (Tabla A.33 del Anexo) refleja los resultados de actividad PME obtenidos a lo largo del almacenamiento a 4°C del caqui control (A-C, III) y de los caquis tratados con APH (A-200 MPa/3 y 6 min/37°C, III).

En relación al caqui control (A-C, III), se muestra un descenso significativo (43%) de la actividad enzimática PME tras 7 días de almacenamiento a 4°C (C-D7), lo que revela que las bajas temperaturas reducen la acción de la enzima PME, seguido de una estabilización tras prolongar el tiempo de almacenamiento hasta el día 21 (C-D21), ya que la actividad PME se mantiene sin variaciones entre los días 7 y 21. Sin embargo, transcurridos 28 días de almacenamiento (C-D28) la actividad PME se incrementa significativamente, alcanzando un valor 48% más elevado que el obtenido para la muestra control inicial (C-D0). Probablemente este incremento esté asociado al proceso de maduración del fruto (Hyodo y col., 2013).

Reducciones de la actividad PME tras 7 días de almacenamiento a 4°C también fueron observadas por Santos y col. (2015) en mango troceado. Asimismo, estudios llevados a cabo en melón troceado (Chisari y col., 2011) y zumo de naranja (Vervoort y col., 2011) también ponen de manifiesto que el almacenamiento en refrigeración (4-5°C) provoca descensos de la actividad PME. No obstante, estudios realizados en manzana (Gwanpua y col., 2014) y calabacín (Carvajal y col., 2015) sin trocear revelan que la refrigeración aumenta la actividad de la enzima PME, si bien almacenar vegetales enteros a 0-2°C parece mantener sin variaciones significativas la actividad PME a lo largo del almacenamiento, tal y como indican los estudios realizados en manzana y zanahoria por Wei y col. (2010), así como por Mierczynska y col. (2015), respectivamente. Por lo tanto, la refrigeración provoca tendencias distintas a las ocasionadas por el almacenamiento a temperatura ambiente (20°C), donde diversos trabajos han mostrado que la actividad PME aumenta hasta alcanzar el máximo del pico climatérico, disminuyendo después (Luo, 2007).

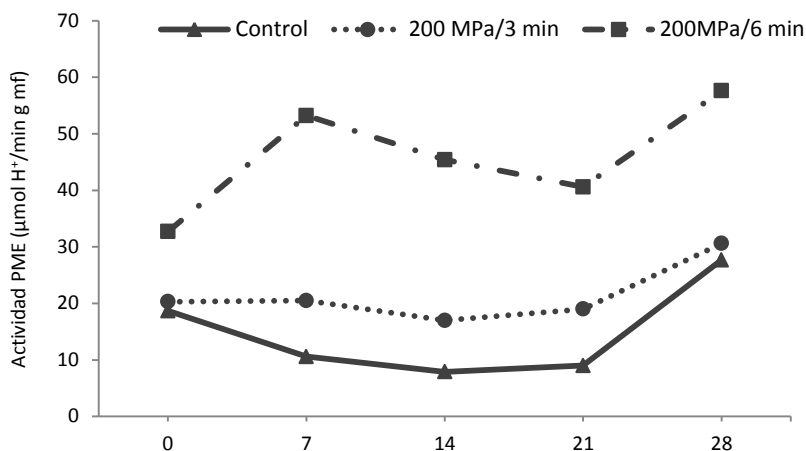


Figura 76. Actividad de la enzima PME en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C entre 0 y 28 días. Tratamientos de APH a 37°C.

En el caso del caqui sometido a 200 MPa/3 min se consigue un perfil similar al obtenido en el control (A-C, III) entre los días de almacenamiento 7 y 28, ambos inclusive, pero se observa una tendencia distinta entre los dos primeros días de muestreo (D0, D7), puesto que transcurridos 7 días de almacenamiento la actividad PME no muestra cambios significativos respecto al valor de actividad del día D0. Por lo tanto, el procesado llevado a cabo con APH durante 3 min estabilizada la actividad de la PME durante 21 días de almacenamiento a 4°C, evitando que el frío reduzca dicha actividad enzimática.

Por último, la refrigeración del caqui tratado con 200 MPa/6 min revela un perfil distinto al obtenido tanto para la muestra control (A-C, III) como para la muestra tratada con APH durante 3 min, teniendo como única similitud con estas dos muestras el incremento de actividad constatado de 21 a 28 días de almacenamiento (D28). En este sentido, después de que el caqui procesado con APH haya permanecido 7 días a 4°C (D7), la actividad enzimática PME se incrementa significativamente un 63% respecto al día de muestreo inicial (D0). A continuación, esta actividad disminuye provocando que a los 14 y 21 días de almacenamiento (D14, D21) se obtengan actividades PME menores que la detectada el día 7 (D7). Asimismo, cabe destacar que, a diferencia de lo que ocurre en el control (A-C, III) y en la muestra tratada con APH durante 3 min, al aplicar el tratamiento de APH durante 6 min se consiguen, en todo el periodo de refrigeración, actividades PME significativamente mayores que la de la

muestra inicial (D0), alcanzando los mayores incrementos de actividad tras 7 y 28 días de almacenamiento (D7, D28).

En general, la actividad PME de las muestras tratadas con APH sigue una tendencia distinta a la obtenida por Vervoort y col. (2011) al aplicar APH a zumo de naranja, donde la combinación 600 MPa/1 min reduce la actividad PME durante el almacenamiento a 4°C. Del mismo modo, someter frutos de melón a radiación ultravioleta reduce la actividad PME durante la refrigeración, según muestran Chisari y col. (2011), mientras que el procesado de otros frutos con ultrasonidos tiende a incrementar la acción de la PME a lo largo de la refrigeración, tal como ponen de manifiesto Santos y col. (2015) al trabajar con mango; estas tendencias son distintas a las obtenidas al aplicar APH a caquis.

Por otra parte, atendiendo a cómo cambia la actividad PME entre el control (A-C, III) y las muestras tratadas con APH al fijar el día de refrigeración, los resultados obtenidos ponen de manifiesto que para todos los días de almacenamiento la muestra de 200 MPa/6 min es la que presenta la mayor actividad PME, seguida de la muestra de 200 MPa/3 min, quedando en general en último lugar el caqui control (A-C, III); contrario al estudio con APH de Vervoort y col. (2011), donde se muestra que para todo el periodo de refrigeración la mayor actividad PME se encuentra en la muestra control. Para el día D0 se observa que someter los caquis astringentes de maduración III a APH sólo aumenta significativamente la actividad PME respecto al control (A-C, III) cuando la duración del tratamiento es de 6 min. Por lo tanto, teniendo en cuenta los resultados de actividad PME del apartado 4 del Capítulo 1 se constata que las APH pueden tener efectos distintos sobre la enzima PME dependiendo de la temperatura a la que se lleva a cabo la presurización. También cabe indicar que se obtienen actividades PME similares entre el caqui control y el caqui tratado con 200 MPa/3 min, para el día 28 de almacenamiento (D28).

En definitiva, en caquis sin tratamiento de APH el almacenamiento a 4°C reduce la actividad PME manteniéndola estable durante 21 días, mientras que para este mismo periodo de almacenamiento, haber aplicado APH a los frutos estabiliza o incrementa la actividad PME, consiguiendo los mayores cambios al prolongar la duración del tratamiento a 6 min. Además, se observa que tras 28 días de refrigeración la actividad PME es significativamente mayor que en los días anteriores, tanto en el control como en los caquis tratados con APH. Asimismo, se constata que para un día de almacenamiento determinado, la mayor actividad PME siempre se encuentra en el

caqui tratado con 200 MPa/6 min, mientras que las actividades PME más bajas tienden a observarse en el caqui control.

Actividad Poligalacturonasa (PG)

Los resultados de actividad PG cuantificados al almacenar a 4°C el caqui control (A-C, III) y los caquis tratados con APH (A-200 MPa/3 y 6 min/37°C, III), se muestran en la Figura 77 (Tabla A.33 del Anexo).

En primer lugar, atendiendo a la muestra control (A-C, III), se observa que tras 7 días de almacenamiento (C-D7) la actividad PG se incrementa significativamente (16%) respecto a la muestra inicial (C-D0), tendencia contraria a la observada en la enzima PME. Sin embargo, la refrigeración del caqui control (A-C, III) durante tiempos más largos reduce significativamente la actividad de la enzima PG, alcanzando el valor más bajo cuando han transcurrido 14 días de almacenamiento (D14). Este perfil es distinto al observado por otros autores (Chisari y col., 2011; Gwanpua y col., 2014; Carvajal y col., 2015; Santos y col., 2015), que obtuvieron incrementos o estabilización de la actividad PG durante periodos de refrigeración.

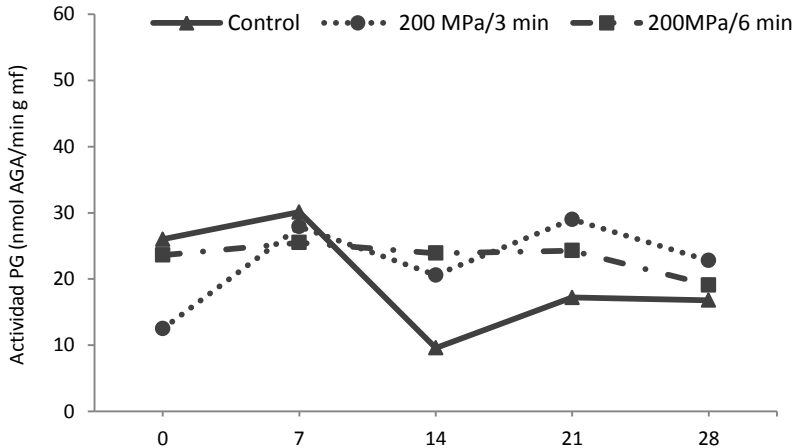


Figura 77. Actividad de la enzima PG en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C entre 0 y 28 días. Tratamientos de APH a 37°C.

En cambio, los resultados de actividad de la enzima PG en relación a los caquis tratados con APH ponen de manifiesto que al aplicar 200 MPa/3 min la actividad se incrementa de manera drástica tras 7 días de almacenamiento (D7), ya que el resultado

obtenido se multiplica por 2 respecto al valor del día D0. Posteriormente, los resultados de actividad cuantificados al prolongar el periodo de almacenamiento son variables, ya que se obtienen valores altos o bajos dependiendo del día de muestreo. No obstante, independientemente de que no se obtenga una tendencia clara entre los días de almacenamiento, en este caqui tratado con 200 MPa/3 min destaca que, a lo largo del almacenamiento, todas las actividades PG son más elevadas que la que presenta la muestra de partida (D0).

Finalmente, en el caqui sometido a 200 MPa/6 min la actividad PG constatada el primer día de muestreo (D0) se mantiene sin variaciones significativas hasta el día 21 de almacenamiento (D21). A continuación, la actividad enzimática PG disminuye significativamente.

Por otra parte, al fijar el día de almacenamiento y comparar entre sí la actividad PG del control (A-C, III) y de las muestras tratadas con APH, los resultados revelan que para el primer día de muestreo (D0), aplicar APH a los caquis astringentes de maduración III disminuye significativamente la actividad PG en comparación con el control (A-C, III), logrando la máxima reducción de actividad cuando el tratamiento de APH es de 3 min. De este modo se pone de manifiesto que, si bien en el apartado 5 del Capítulo 1 ha quedado reflejado que los tratamientos de APH 200 MPa/3 y 6 min (25°C) incrementan la actividad PG respecto al control (A-C, III), la aplicación de 200 MPa/3 y 6 min a 37°C invierte esta tendencia, confirmando así que el efecto de las APH sobre la enzima PG puede depender de la temperatura a la que se lleva a cabo el tratamiento. Para el día 7 de almacenamiento (D7) el caqui control (A-C, III) también es el que muestra la mayor actividad PG, aunque este día los resultados de las tres muestras son más próximos entre sí. Por el contrario, tras 14 y 21 días de almacenamiento (D14, D21), los caquis tratados con APH son las muestras que presentan la mayor actividad PG.

En resumen, durante el almacenamiento a 4°C sólo se pueden obtener reducciones de la actividad PG cuando el caqui es control, ya que al aplicar APH a caquis astringentes de maduración III el almacenamiento tiende a aumentar esta actividad enzimática cuando el tratamiento se aplica durante 3 min, o mantiene la actividad PG estable cuando el tratamiento de APH es de 6 min. Además, se observa que la actividad PG no guarda relación con la actividad PME; sólo resulta relevante que en las muestras tratadas con APH el descenso observado de la actividad PG al pasar del día 21 al 28 (D21, D28) se corresponde con un aumento de actividad de la enzima PME. Al fijar el

día de almacenamiento, la comparación del control y las muestras sometidas a APH pone de manifiesto que se pueden conseguir reducciones de actividad cuando la aplicación de la presión se realiza a 37°C, y que a lo largo del almacenamiento a 4°C la enzima PG de las muestras tratadas con APH tiene mayor o menor capacidad de despolimerizar pectinas que la enzima PG del control, dependiendo del número de días que las muestras hayan permanecido almacenadas a 4°C.

4. GRADO DE METILESTERIFICACIÓN

La Figura 78 (Tabla A.33 del Anexo) recoge los grados de metilesterificación (GM) del caqui control (A-C, III) y de los caquis tratados con APH (A-200 MPa/3 y 6 min/37°C, III) a lo largo del almacenamiento a 4°C.

En el caqui control (A-C, III) el GM se reduce significativamente (21%) respecto al valor de la muestra inicial (C-D0) cuando han transcurrido 7 días de almacenamiento a 4°C (C-D7), y después mantiene un nivel similar hasta el final del estudio (C-D28), si bien los trabajos encontrados en la bibliografía (Galindo y col., 2004; Billy y col., 2008; Gwanpua y col., 2014; Mierczynska y col., 2015) revelan que el almacenamiento a temperaturas comprendidas entre 0-10°C no suele modificar el GM.

Aunque de los resultados parece desprenderse que la desesterificación de pectinas sólo se produce transcurridos 7 días de almacenamiento, probablemente debida a la enzima PME, hay que considerar la posibilidad de que la PME siga actuando en el fruto durante el resto del periodo de refrigeración, y que exista síntesis de nuevas pectinas altamente esterificadas. En este sentido, en la bibliografía queda recogido que durante la maduración puede existir síntesis de polisacáridos pécticos (Eskin, 2012; Hyodo y col., 2013), hecho que Mierczynska y col. (2015) sostienen que también puede ocurrir durante el almacenamiento en refrigeración. La síntesis aparecería junto con la degradación de pectinas y compensaría la desesterificación ocasionada por la PME, de manera que el GM no se modificaría durante la refrigeración. De este modo, en el caqui control (A-C, III) podría justificarse, por ejemplo, que al final de la refrigeración (C-D28) el GM no se reduzca a pesar de haber constatado un incremento de actividad PME (apartado 3). Además, expresar el GM referido a RIA lleva implícito el contenido de pectinas, por lo que la solubilización y/o síntesis de pectinas que pueda ocurrir durante el almacenamiento, quedará reflejada en el GM expresado como $\mu\text{mol MeOH/g RIA}$.

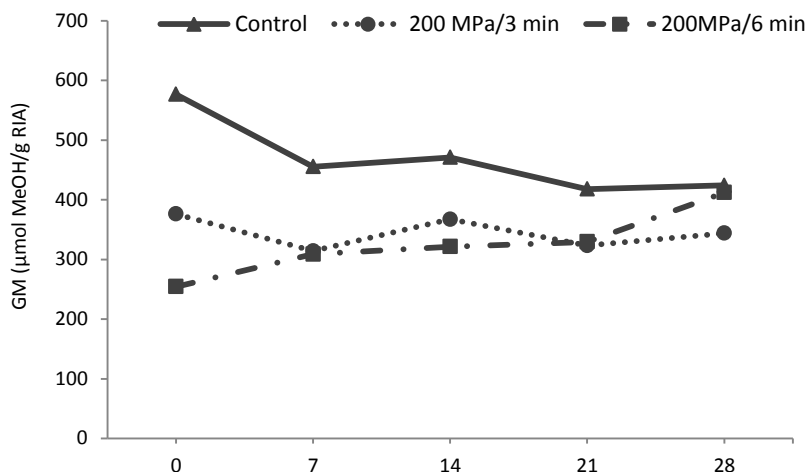


Figura 78. Grado de metilesterificación (GM) en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C entre 0 y 28 días. Tratamientos de APH a 37°C.

En el caso de las muestras tratadas con APH, el caqui sometido a 200 MPa/3 min mantiene el GM sin cambios significativos a lo largo de todo el periodo de almacenamiento, lo que en general se corresponde con los resultados de actividad de la PME (apartado 3), mientras que en el caqui sometido a 200 MPa/6 min, el GM aumenta significativamente durante el periodo de almacenamiento, alcanzando el valor más alto el día 28 (D28). Por lo tanto, en esta muestra tratada con APH durante 6 min, parece constatar que el incremento de actividad de la PME (Figura 76) no se corresponde con los resultados del GM, porque puede que exista síntesis de pectinas que provocaría el aumento del GM.

Por otra parte, al fijar el día de almacenamiento y comparar entre sí los GM del control (A-C, III) y las muestras tratadas con APH, se observa que para el primer día de muestreo (D0) la aplicación de APH a caquis astringentes de maduración III reduce significativamente el GM de los polisacáridos pécticos respecto al control (A-C, III), resultado equivalente al obtenido al aplicar los tratamientos de APH 200 MPa/3 y 6 min a 25°C (Figura 60a). Para el resto de días de almacenamiento cabe destacar que, en general, la muestra control (A-C, III) es la que presenta el mayor GM a lo largo de los 28 días de almacenamiento en frío. Las muestras tratadas con APH tienen valores similares tanto el día 7 como el día 21 de almacenamiento.

En definitiva, durante el periodo de almacenamiento a 4°C el grado de metilesterificación se reduce en el caqui sin tratamiento de APH, mientras que en los caquis tratados con APH el GM se mantiene estable si el tiempo de tratamiento es de 3 min, y se incrementa si el tiempo es de 6 min. Además, se observa que para un día de refrigeración determinado, los GM más bajos están en los caquis tratados con APH, lo que concuerda con los resultados de actividad PME (Figura 76).

5. PROPIEDADES TECNOFUNCIONALES

En las Figuras 79 y 80 (Tabla A.34 del Anexo) se muestran las propiedades tecnofuncionales del RIA obtenidas durante el almacenamiento a 4°C del caqui control (A-C, III) y de los caquis tratados con APH (A-200 MPa/3 y 6 min/37°C, III).

En lo que respecta al caqui control (A-C, III), se observa que el almacenamiento a 4°C de los caquis no condiciona ni la densidad aparente ni la capacidad de gelificación del RIA. Sin embargo, la capacidad de retención de aceite se reduce significativamente hasta un 27% transcurridos 7 días de almacenamiento (D7), si bien prolongar el periodo de refrigeración tiende a incrementar el valor de esta propiedad, hasta alcanzar el día 21 (D21) la CRAc observada en las muestras no refrigeradas (D0). Las propiedades de hidratación del RIA también sufren cambios significativos si los frutos han permanecido a 4°C. En los primeros días de almacenamiento se observa reducción de la CAA, que alcanza su valor más bajo tras 14 días (D14), después, si la refrigeración se mantiene hasta los días 21 y 28 (D21, D28), la CAA permanece invariable respecto al valor de CAA cuantificado en el RIA del primero día de muestreo (D0). Atendiendo a la CRA (agua fuertemente ligada), destaca que la tendencia observada es distinta a la obtenida para la CAA, ya que en general, almacenar los caquis a 4°C disminuye esta propiedad tecnofuncional sólo cuando el periodo de almacenamiento se ha prolongado hasta 28 días (D28). La CH (agua débilmente ligada) es la única propiedad que se ve favorecida con el almacenamiento, ya que transcurridos 21 y 28 días (D21, D28) se observan incrementos significativos en comparación con el valor cuantificado en el RIA del día D0.

La refrigeración del caqui tratado con 200 MPa/3 min muestra que la densidad aparente del RIA es similar para los cuatro primeros días de muestreo (D0, D7, D14 y D21), pero aumenta significativamente respecto al valor de densidad del día D0 si el periodo de almacenamiento se prolonga hasta 28 días. En relación a la capacidad de retención de aceite se constata una tendencia similar a la obtenida en el caqui control;

el RIA pierde capacidad para interactuar con el aceite si los caquis han permanecido almacenados durante 7 días (D7), pero recupera el valor de CRAc que exhibe la muestra del día D0 si los caquis se exponen a la temperatura de 4°C durante 28 días (D28). La capacidad de gelificación es similar independientemente de que el caqui haya estado almacenado a 4°C. En las propiedades de hidratación se observa que la CAA se favorece significativamente entre 22-55% al prolongar el tiempo de refrigeración, alcanzando el valor más elevado el segundo día de muestreo (D7). La CRA también se incrementa significativamente respecto al valor obtenido en la primera muestra (D0), pero sólo cuando han transcurrido 7 y 21 días de almacenamiento (D7, D21), mientras que en la CH destaca el drástico incremento cuando el periodo de refrigeración se prolonga hasta 21 y 28 días.

Por último, en el caso del caqui tratado con 200 MPa/6 min, los resultados revelan que, al igual que en el control (A-C, III) y en el caqui tratado con 200 MPa/3 min, las propiedades de densidad aparente y capacidad de gelificación son las más estables frente al almacenamiento a 4°C. Por el contrario, se observa que la refrigeración, con una duración de hasta 28 días, favorece tanto la capacidad de retención de aceite como las propiedades de hidratación del RIA cuando el caqui ha sido previamente expuesto a la presión de 200 MPa durante 6 min.

Estos resultados son distintos a los obtenidos por Torres (2013) en cebolla, donde se muestra que, tanto en las cebollas sin tratamiento de APH como en las cebollas presurizadas (100 MPa/5 min/50°C y 400 MPa/5 min/25°C), el almacenamiento a 4°C durante un periodo de 28 días no modifica las propiedades tecnofuncionales del RIA.

Por otra parte, al fijar el día de almacenamiento y comparar entre sí las propiedades tecnofuncionales del control (A-C, III) y de las muestras tratadas con APH, se observa que la densidad aparente es la propiedad que menos se modifica al aplicar APH. Asimismo, los resultados revelan que, para todos los días de refrigeración a 4°C, la mayor capacidad de gelificación, así como los valores más elevados de capacidad de retención de aceite y propiedades de hidratación, se obtienen cuando los caquis se han sometidos a APH, principalmente al tratamiento de 200 MPa/6 min.

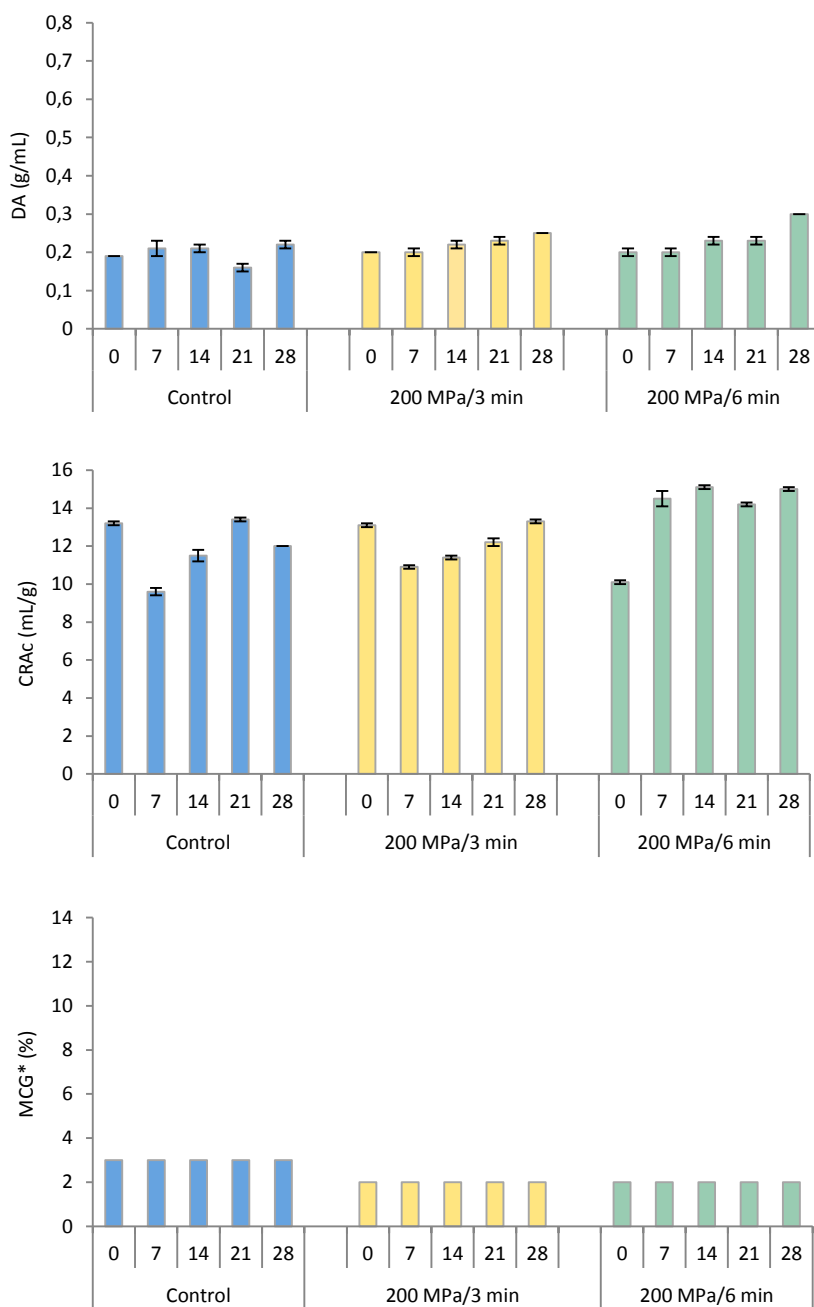


Figura 79. Efecto de las APH sobre la DA, CRAc y MCG, en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C entre 0 y 28 días. Tratamientos de APH a 37°C. *No se incluye barra de error por la naturaleza del ensayo analítico.

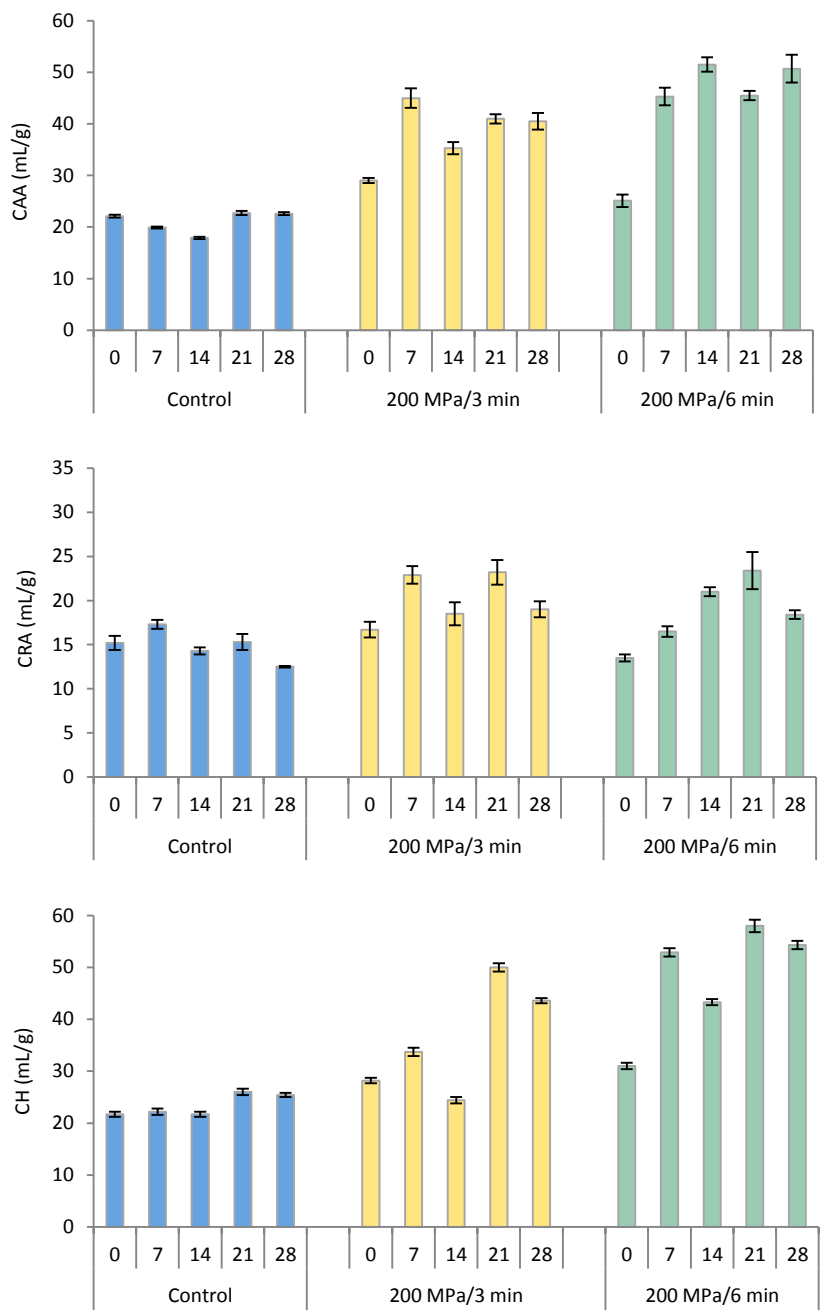


Figura 80. Efecto de las APH sobre las propiedades de hidratación (CAA, CRA y CH), en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C entre 0 y 28 días. Tratamientos de APH a 37°C.

Por lo tanto, el almacenamiento en refrigeración afecta principalmente a la capacidad de retención de aceite y a las propiedades de hidratación, mostrando tendencias distintas en el control y en los caquis tratados con APH. La capacidad de retención de aceite del control y del caqui tratado con 200 MPa/3 min se reduce tras 7 días a 4°C, y posteriormente recupera el valor de la muestra de partida, siendo el caqui tratado con APH el que más tiempo debe permanecer en refrigeración para alcanzar dicha CRAc. Esta propiedad sólo se favorece con el almacenamiento a 4°C si el caqui ha sido previamente tratado con 200 MPa/6 min.

Asimismo, en las propiedades de hidratación se destaca que la refrigeración incrementa la CAA si los caquis se tratan con APH, si bien la mayor interacción que el RIA establece con el agua podría no perdurar en el tiempo si la exposición a la presión ha sido de 3 min, ya que en este caso sólo se constatan aumentos significativos de CRA transcurridos 7 y 21 días de almacenamiento a 4°C. La capacidad de hinchamiento tiende a aumentar con la duración del periodo de refrigeración. Además, con independencia del tiempo que los caquis permanezcan en refrigeración, se observa que las APH favorecen las propiedades tecnofuncionales del RIA, principalmente cuando se han aplicado 200 MPa/6 min.

• Conclusiones parciales

La influencia de las APH en caquis durante el almacenamiento en condiciones de refrigeración (4°C) pone de manifiesto que la fibra total y la fibra insoluble no muestran variaciones; sólo se observan cambios en los contenidos de FS. Sin embargo, en cuanto a los niveles de RIA se constata que el tratamiento 200 MPa/3 min/37°C provoca una reducción tras 7 días de refrigeración, en cambio, una mayor duración del tratamiento de APH genera un aumento progresivo del contenido de RIA a lo largo de 28 días de refrigeración.

El almacenamiento en condiciones de refrigeración (4°C) pone de manifiesto la estabilidad o incremento de la actividad PME en los frutos tratados con APH, consiguiendo los mayores cambios cuando la duración del tratamiento es de 6 min, mientras que las actividades PME más bajas tienden a observarse en el caqui control.

En relación a la actividad PG, el almacenamiento de caquis tratados revela aumentos de esta actividad enzimática cuando el tratamiento se aplica durante 3 min, o se mantiene estable cuando el tratamiento de APH es de 6 min. En general, se observa que la actividad PG no guarda relación con la actividad PME.

Los valores de GM descienden en caquis control almacenados a 4°C, pero en los tratados con APH presentan tendencias diferentes según sea la duración del tratamiento, así el GM permanece estable a 3 min y aumenta a 6 min.

En las propiedades tecnofuncionales, el control y los caquis tratados con APH muestran tendencias distintas, principalmente sobre la capacidad de retención de aceite y las propiedades de hidratación. La capacidad de retención de aceite sólo se ve favorecida con el almacenamiento a 4°C siempre que el caqui haya sido previamente tratado con 200 MPa/6 min. En relación a las propiedades de hidratación, se destaca que la refrigeración incrementa la capacidad de absorción de agua y la capacidad de hinchamiento cuando los caquis se tratan con APH. En general, con independencia del tiempo que los caquis permanezcan en refrigeración, se observa que las APH favorecen las propiedades tecnofuncionales del RIA, principalmente cuando se han aplicado 200 MPa/6 min.

Conclusiones

El análisis global de los resultados recogidos en la presente memoria permite establecer las siguientes conclusiones:

1. En relación a la influencia que las altas presiones hidrostáticas tienen en caquis “Rojo Brillante” se deduce que:

Este tratamiento tecnológico no provoca impacto en el nivel de fibra total, aunque en caquis de maduración III se constata redistribución de fibra soluble a fibra insoluble. Las proporciones de fibra obtenidas son dependientes de la astringencia y maduración de los frutos. El contenido de fibra insoluble tiende a ser mayor en caquis no astringentes debido a la insolubilización de FS, mientras que, en general, en caquis astringentes se observan los valores más altos de fibra soluble.

La aplicación de altas presiones hidrostáticas a caquis de diferente astringencia y maduración (excepto en caquis no astringentes de maduración III) da lugar a modificaciones en la estructura de la pared celular, con pérdida de azúcares totales, principalmente de glucosa y ácidos urónicos, y aumento de lignina Klason. En general, en los frutos menos maduros, tanto astringentes como no astringentes, los azúcares totales representan la principal fracción del residuo insoluble en alcohol, que disminuye a medida que avanza la maduración.

La actividad de la enzima pectinmetilesterasa aumenta en todas las muestras de caqui tratadas con altas presiones, encontrando las mayores actividades en caquis no astringentes. En cambio, las altas presiones hidrostáticas modifican la actividad poligalacturonasa en caquis no astringentes, con tendencias contrarias en función del estado de maduración. El grado de metilesterificación se ve influido por las diferentes combinaciones de presión/tiempo de los tratamientos de altas presiones hidrostáticas.

En relación a las propiedades tecnofuncionales, el efecto de las altas presiones hidrostáticas establece que el residuo insoluble en alcohol es un material con características más favorables que el liofilizado de caqui para retener agua/aceite y formar geles. En concreto, el residuo insoluble en alcohol de caquis no astringentes de maduración III es el que muestra las mejores propiedades tecnofuncionales, lo que le convierte en un potencial ingrediente alimentario con buenas propiedades de hidratación y gelificación.

2. En cuanto al efecto del tratamiento combinado altas presiones hidrostáticas-temperatura se pone de manifiesto que:

El aumento de la temperatura del tratamiento de APH a 37°C provoca solubilización de fibra total y residuo insoluble en alcohol. Las actividades pectinmetilesterasa y poligalacturonasa disminuyen con los tratamientos más cortos, lo que va acompañado de un incremento significativo del grado de metilesterificación, como consecuencia de la menor actividad pectinmetilesterasa.

3. El estudio del comportamiento de los caquis tratados con altas presiones hidrostáticas (200 MPa/3-6 min/37°C) durante el almacenamiento a temperaturas de refrigeración (4°C) revela que:

La fibra total y la fibra insoluble no muestran variaciones. En general, el contenido del residuo insoluble en alcohol experimenta un aumento progresivo a lo largo de 28 días de refrigeración, siendo los caquis tratados con altas presiones hidrostáticas durante 6 min los que muestran los mayores contenidos.

Asimismo, estos caquis experimentan estabilidad o incremento de la actividad pectinmetilesterasa, especialmente cuando la duración del tratamiento es de 6 min, mientras que la actividad poligalacturonasa sólo aumenta cuando el tratamiento de altas presiones es de 3 min. En general, la actividad poligalacturonasa no guarda relación con la actividad pectinmetilesterasa.

En relación a las propiedades tecnofuncionales, son la capacidad de retención de aceite y las propiedades de hidratación las que experimentan los cambios más destacables; las altas presiones hidrostáticas favorecen dichas propiedades, especialmente cuando se han aplicado 200 MPa/6 min/37°C.

Bibliografía

AACC (American Association of Cereal Chemists) (2001). The definition of dietary fiber (W-2001-0222-01O). *Cereal Foods World*, 46(3), 112-126.

Abdul-Hamid, A., y Luan, Y. S. (2000). Functional properties of dietary fiber prepared from defatted rice bran. *Food Chemistry*, 68, 15-19. doi:10.1016/S0308-8146(99)00145-4

Abu-Goukh, A. -B. A., y Bashir, H. A. (2003). Changes in pectic enzymes and cellulase activity during guava fruit ripening. *Food Chemistry*, 83(2), 213-218. doi:10.1016/S0308-8146(03)00067-0

Adams, D. O., y Scholz, R. C. (2008). Tannins – the problem of extraction. En R. Blair, P. Williams, S. Pretorius (Eds.), Proceedings of the thirteenth Australian wine industry technical conference, 28 July to 2 August 2007, Adelaide, South Australia (pp. 160-164). Adelaide, Australia: Australian Wine Industry Technical Conference Inc. <http://www.awitc.com.au/proceedings/default.asp> (acceso el 13/04/2015).

Aguiló-Aguayo, I., Oms-Oliu, G., Soliva-Fortuny, R., y Martín-Belloso, O. (2009). Changes in quality attributes throughout storage of strawberry juice processed by high-intensity pulsed electric fields or heat treatments. *LWT - Food Science and Technology*, 42(4), 813-818. doi:10.1016/j.lwt.2008.11.008

Albersheim, P., Darvill, A. G., O'Neill, M. A., Schols, H. A., y Voragen, A. G. J. (1996). An hypothesis: the same six polysaccharides are components of the primary cell walls of all higher plants. En J. Visser, y A. G. J. Voragen (Eds.), Progress in Biotechnology (pp. 47-55). Wageningen, The Netherlands: Elsevier.

Albersheim, P., Darvill, A., Roberts, K., Sederoff, R., y Stachelin, A. (2010). *Plant Cell Walls*, New York, USA: Garland Science.

Ali, Z. M., Chin, L. -H., y Lazan, H. (2004). A comparative study on wall degrading enzymes, pectin modifications and softening during ripening of selected tropical fruits. *Plant Science*, 167(2), 317-327. doi:10.1016/j.plantsci.2004.03.030

Alonso, J., Howell, N., y Canet, W. (1997). Purification and characterisation of two pectinmethylesterase from persimmon (*Diospyros kaki*). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 75, 352-358.

Anderson, J. W., Randles, K. M., Kendall, C. W., y Jenkins, D. J. (2004). Carbohydrate and fiber recommendations for individuals with diabetes: a quantitative assessment and meta-analysis of the evidence. *Journal of the American College of Nutrition*, 23(1), 5-17.

Anthon, G. E., y Barrett, D. M. (2010). Changes in pectin methylesterification and accumulation of methanol during production of diced tomatoes. *Journal of Food Engineering*, 97(3), 367-372. doi:10.1016/j.jfoodeng.2009.10.031

Anthon, G. E., y Barrett, D. M. (2012). Pectin methylesterase activity and other factors affecting pH and titratable acidity in processing tomatoes. *Food Chemistry*, 132(2), 915-920. doi:10.1016/j.foodchem.2011.11.066

AOAC (1995). AOAC Official Method 991.43. Total, soluble, and insoluble dietary fibre in foods. *Official Methods of Analysis*, 32, 7-9.

Aozasa, O., Ohta, S., Nakao, T., Miyata, H., y Nomura, T. (2001). Enhancement in fecal excretion of dioxin isomer in mice by several dietary fibers. *Chemosphere*, 45(2) 195-200. doi:10.1016/S0045-6535(00)00557-9

Asgar, M. D., Yamauchi, R., y Kato, K. (2003). Modification of pectin in Japanese persimmon fruit during the sun-drying process. *Food Chemistry*, 81(4), 555-560. doi:10.1016/S0308-8146(02)00489-2

Balny, C. (2004). Pressure effects on weak interactions in biological systems. *Journal of Physics: Condensed Matter*, 16, 1245-1253.

Balogh, T., Smout, C., Ly-Nguyen, B., Van Loey, A. M., y Hendrickx, M. E. (2004). Thermal and high-pressure inactivation kinetics of carrot pectinmethylesterase: from model system to real foods. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5(4), 429-436. doi:10.1016/j.ifset.2004.06.002

Barba, F. J., Esteve M. J., y Frígola, A. (2012). High pressure treatment effect on physicochemical and nutritional properties of fluid foods during storage: a review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 11, 307-322.

Barnavon, L., Doco, T., Terrier, N., Ageorges, A., Romieu, C., y Pellerin, P. (2001). Involvement of pectin methyl-esterase during the ripening of grape berries: partial cDNA isolation, transcript expression and changes in the degree of methyl-esterification of cell wall pectins. *Phytochemistry*, 58(5), 693-701. doi:10.1016/S0031-9422(01)00274-6

Baron-Epel, O., Gharyl P. K., y Schindler, M. (1988). Pectins as mediators of wall porosity in soybean cells. *Planta*, 175, 389-395.

Barroca, M. J., Guiné, R. P. F, Pinto, A., Gonçalves, F. M., y Ferreira, D. M. S. (2006). Chemical and microbiological characterization of portuguese varieties of pears. *Food and Bioproducts Processing*, 84(C2), 109-113. doi: 10.1205/fbp.05200

Basanta, M. F., Plá, M. F. E., Raffo, M. D., Stortz, C. A., y Rojas, A. M. (2014). Cherry fibers isolated from harvest residues as valuable dietary fiber and functional food ingredients. *Journal of Food Engineering*, 126, 149-155. doi:10.1016/j.jfoodeng.2013.11.010

Bautista-Ortín, A. B., Cano-Lechuga, M., Ruiz-García Y., y Gómez-Plaza E. (2014). Interactions between grape skin cell wall material and commercial enological tannins. Practical implications. *Food Chemistry*, 152, 558-565.

Beck, C. B. (Ed.) (2010). *An introduction to plant structure and development: Plant anatomy for the twenty-first century*. United Kingdom: Cambridge University Press.

Benen, J. A. E., y Visser, J. (2003). Polygalacturonases. En J. R. Whitaker, A. G. J. Voragen, y D. W. S. Wong, (Eds.), *Handbook of food enzymology* (pp. 857-866). New York, USA: Marcel Dekker Inc.

Benítez, V. (2011). Caracterización de subproductos de cebolla como fuente de fibra alimentaria y otros compuestos bioactivos (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Madrid, España.

Benítez, V., Mollá, E., Martín-Cabrejas, M. A., Aguilera, Y., López-Andréu, F. J., y Esteban, R. M. (2011). Effect of sterilisation on dietary fibre and physicochemical properties of onion by-products. *Food Chemistry*, 127(2), 501-507.

Benítez, V., Mollá, E., Martín-Cabrejas, M. A., Aguilera, Y., López-Andréu, F. J., y Esteban, R. M. (2012). Onion (*Allium cepa* L.) by-products as source of dietary fiber: physicochemical properties and effect on serum lipid levels in high-fat fed rats. *European Food Research and Technology*, 234, 617-625.

Besada, C., Salvador, A., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Hernando, I., y Pérez-Munuera, I. (2012). Involvement of antioxidant activity in flesh browning of astringent persimmon. *Acta Horticulturae*, 934, 713-718.

Bidlack, J., Malone, M., y Benson, R. (1992). Molecular structure and component integration of secondary cell walls in plants. *Proceedings of Oklahoma Academy of Sciences*, 72, 51-56.

Billy, L., Mehinagic, E., Royer, G., Renard, C. M. G. C., Arvisenet, G., Prost, C., y Jourjon, F. (2008). Relationship between texture and pectin composition of two apple cultivars during storage. *Postharvest Biology and Technology*, 47(3), 315-324. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.07.011

Bindon, K. A., Smith, P., y Kennedy, J. (2010a). Interaction between grape-derived proanthocyanidins and cell wall material. 1. Effect on proanthocyanidin composition and molecular mass. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 2520-2528.

Bindon, K. A., Smith, P., Holt, H., y Kennedy, J. (2010b). Interaction between grape-derived proanthocyanidins and cell wall material. 2. Implications for vinification. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58, 10736-10746.

Bindon, K. A., Bacic, A., y Kennedy, J. A. (2012). Tissue-specific and developmental modifications of grape cell walls influence the adsorption of proanthocyanidins. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(36), 9249-9260. doi:10.1021/jf301552t

Biswas, A. K., Kumar, V., Bhosle, S., Sahoo, J., y Chatli, M. K. (2011). Dietary fibers as functional ingredients in meat products and their role in human health. *International Journal of Livestock Production*, 2, 45-54.

Blumenkrantz, N., y Asboe-Hansen, G. (1973). New method for quantitative determination of uronic acids. *Analytical Biochemistry*, 54(2), 484-489. doi:10.1016/0003-2697(73)90377-1.

Bodelón, O. G., Avizcuri, J. -M., Fernández-Zurbano, P., Dizy, M., y Préstamo, G. (2013). Pressurization and cold storage of strawberry purée: Colour, anthocyanins, ascorbic acid and pectin methylesterase. *LWT - Food Science and Technology*, 52(2), 123-130. doi:10.1016/j.lwt.2012.08.025

Boileau, T. W. M., Moore, A. C., y Erdman, J. W. (1999). Carotenoids and Vitamin A. En A. M. Papas (Ed.), *Antioxidant Status, Diet, Nutrition, and Health* (pp. 133-158). Washington D. C., USA: CRC Press.

Bordenave, M. (1996). Analysis of pectin methyl esterases. En H. F. Linskens y J. F. Jackson (Eds.), *Plant Cell Wall Analysis* (pp. 165-180). New York, USA: Springer.

Borderías, A. J., Sánchez-Alonso, I., y Pérez-Mateos, M. (2005). New application of fibre in foods: Addition to fishery products. *Trends in Food Science and Technology*, 16, 458-465. doi:10.1016/j.tifs.2005.03.011

Bradstreet, R. B. (Ed.). (1965). *The Kjeldahl Method for Organic Nitrogen*. Academic Press. doi:10.1016/B978-1-4832-3298-0.50002-3

Braz de Oliveira, A. J., Correia Gonçalves, R. A., Perez Cantuaria Chieritto, T., Müller dos Santos, M., Mera de Souza, L., James Gorin, P. A.,... y Iacomini, M. (2011). Structure and degree of polymerisation of fructooligosaccharides present in roots and leaves of *Stevia rebaudiana* (Bert.) Berton. *Food Chemistry*, 129(2), 305-311. doi:10.1016/j.foodchem.2011.04.057

Briones-Labarca, V., Venegas-Cubillos, G., Ortiz-Portilla, S., Chacana-Ojeda, M., y Maureira, H. (2011). Effects of high hydrostatic pressure (HHP) on bioaccessibility, as well as antioxidant activity, mineral and starch contents in Granny Smith apple. *Food Chemistry*, 128(2), 520-529. doi:10.1016/j.foodchem.2011.03.074

Brown, A. (2014). *Understanding Food: Principles and Preparation*. USA: Cengage Learning.

Brownlee, I. A., Dettmar, P. W., Strugala, V., y Pearson, J. P (2006). The interaction of dietary fibres with the colon. *Current Nutrition and Food Science*, 2, 243-264. doi: 10.2174/157340106778017896

Brownlee, I. A. (2011). The physiological roles of dietary fibre. *Food Hydrocolloids*, 25, 238-250. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.11.013

Brummell, D. A., y Harpster, M. H. (2001). Cell wall metabolism in fruit softening and quality and its manipulation in transgenic plants. *Plant Molecular Biology*, 47, 311-340.

Brummell, D. A., Dal Cin, V., Crisosto, C. H., y Labavitch, J. M. (2004). Cell wall metabolism during maturation, ripening and senescence of peach fruit. *Journal of Experimental Botany*, 55(405), 2029-2039. doi: 10.1093/jxb/erh227

Brummell, D. A. (2006). Cell wall disassembly in ripening fruit. *Functional Plant Biology*, 33, 103-119. doi:10.1071/FP05234

Butt, M. S., Sultan, M. T., Aziz, M., Naz, A., Ahmed, W., Kumar, N., y Imran, M. (2015). Persimmon (*Diospyros kaki*) fruit: hidden phytochemicals and health claims. *EXCLI Journal*, 14, 542-561.

Caffall, K. H., y Mohnen, D. (2009). The structure, function, and biosynthesis of plant cell wall pectic polysaccharides. *Carbohydrate Research*, 344, 1879-1900.

- Cai, Y.,** Gaffney, S. H., Lilley, T. H., y Haslam, E. (1989). Carbohydrate-polyphenol complexation. En R.W. Hemingway y J. J. Karchesy (Eds.), *Chemistry and significance of condensed tannins* (pp. 307-322). New York, USA: Plenum Press.
- Candir, E. E.,** Ozdemir, A. E., Kaplankiran, M., y Toplu, C. (2009). Physico-chemical changes during growth of persimmon fruits in the East Mediterranean climate region. *Scientia Horticulturae*, 121(1), 42-48. doi:10.1016/j.scienta.2009.01.009
- Cao, S.,** Zheng, Y., Wang, K., Rui, H., y Tang, S. (2009). Effect of 1-methylcyclopropene treatment on chilling injury, fatty acid and cell wall polysaccharide composition in loquat fruit. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 57, 8439-8443.
- Cao, S.,** Zheng, Y., Wang, K., Rui, H., y Tang, S. (2010). Effect of methyl jasmonate on cell wall modification of loquat fruit in relation to chilling injury after harvest. *Food Chemistry*, 118(3), 641-647. doi:10.1016/j.foodchem.2009.05.047
- Cardello, A. V.** (2003). Consumer concerns and expectations about novel food processing technologies: Effects on product liking. *Appetite*, 40, 217-233. doi:10.1016/S0195-6663(03)00008-4
- Cardello, A. V.,** Schutz, H. G., y Leshner, L. L. (2007). Consumer perceptions of foods processed by innovative and emerging technologies: A conjoint analytic study. *Innovative Food and Emerging Technologies*, 8, 73-83. doi:10.1016/j.ifset.2006.07.002
- Carlson, E.,** Drzewinski, A., y van Leeuwen, J. M. J. (2001). Crossover behavior for long reptating polymers. *Physical Review E*, 64, 010801. doi:10.1103/PhysRevE.64.010801
- Carpita, N. C.,** Sabularse, D., Montezinos, D., y Delmer, D. P. (1979). Determination of the pore size of cell walls of living plant cells. *Science*, 205, 1144-1147.
- Carpita, N. C.,** y Gibeaut, D. M. (1993). Structural models of primary cell walls in flowering plants: consistency of molecular structure with the physical properties of the walls during growth. *The Plant Journal*, 3, 1-30.
- Carpita, N. C.,** y McCann, M. (2000). The cell wall. En B. B. Buchanan, W. Gruissem, y R. L. Jones (Eds.), *Biochemistry and molecular biology of plants* (pp. 52-108). Poole, UK: Orca Book Services and American Society of Plant Physiologists.
- Carvajal, F.,** Palma, F., Jamilena, M., y Garrido, D. (2015). Cell wall metabolism and chilling injury during postharvest cold storage in zucchini fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 108, 68-77 doi:10.1016/j.postharvbio.2015.05.013
- Castelló, M. L.,** Heredia, A., Domínguez, E., Ortolá, M. D., y Tarrazó, J. (2011). Influence of thermal treatment and storage on astringency and quality of a spreadable product from persimmon fruit. *Food Chemistry*, 128(2), 323-329.
- Chantaro, P.,** Devahastin, S., y Chiewchan, N. (2008). Production of antioxidant high dietary fiber powder from carrot peels. *LWT - Food Science and Technology*, 41(10), 1987-1994. doi:10.1016/j.lwt.2007.11.013

Chaplin, M. F. (2003). Fibre and water binding. *Proceedings of the Nutrition Society*, 62(1), 223-227. doi: 10.1079/PNS2002203

Chau, C. -F., Chen, C. -H., y Lee, M. -H. (2004). Comparison of the characteristics, functional properties, and in vitro hypoglycemic effects of various carrot insoluble fiber-rich fractions. *LWT - Food Science and Technology*, 37(2), 155-160. doi:10.1016/j.lwt.2003.08.001

Cheftel, J. C. (1992). Effects of high hydrostatic pressure on food constituents: an overview. En C. Balny, R. Hayashi, K. Heremans, y P. Masson (Eds.), *High Pressure and Biotechnology* (pp. 195-209). Montrouge, France: John Libbey Eurotext.

Chen, J., Du, J., Ge, Z. -Z., Zhu, W., Nie, R., y Li, C. -M. (2015). Comparison of sensory and compositions of five selected persimmon cultivars (*Diospyros kaki* L.) and correlations between chemical components and processing characteristics. *Journal of Food Science and Technology*, 1-11. doi:10.1007/s13197-015-2102-y

Chisari, M., Barbagallo, R. N., Spagna, G., y Artes, F. (2011). Improving the quality of fresh-cut melon through inactivation of degradative oxidase and pectinase enzymatic activities by UV-C treatment. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 463-468. doi:10.1111/j.1365-2621.2010.02466.x

Cho, S. S., y Samuel, P. (Eds.) (2009). *Fiber ingredients: Food application and health benefits*. Boca Raton: CRC Press.

Chung, H. S., Kim, H. S., Lee, Y. G., y Seong, J. H. (2015). Effect of deastringency treatment of intact persimmon fruits on the quality of fresh-cut persimmons. *Food Chemistry*, 166, 192-197. doi:10.1016/j.foodchem.2014.06.015

Ciardiello, M. A., Tamburrini, M., Tuppo, L., Carratore, V., Giovane, A., Mattei, B., y Camardella, L. (2004). Pectin methylesterase from kiwi and kaki fruits: purification, characterization, and role of pH in the enzyme regulation and interaction with the kiwi proteinaceous inhibitor. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(25), 7700-7703.

Codex Alimentarius. (2009). Report of the 31st Session of the Codex Committee on Nutrition and Foods for Special Dietary Uses (ALINORM 10/33/26). Düsseldorf, Germany, 2-6 November, 2009.

Coenen, G. J., Bakx, E. J., Verhoef, R. P., Schols, H. A., y Voragen, A. G. J. (2007). Identification of the connecting linkage between homo- or xylogalacturonan and rhamnogalacturonan type I. *Carbohydrate Polymers*, 70, 224-235.

Colin-Henrion, M., Mehinagic, E., Renard, C. M. G. C., Richomme, P., y Jourjon, F. (2009). From apple to applesauce: Processing effects on dietary fibres and cell wall polysaccharides. *Food Chemistry*, 117(2), 254-260. doi:10.1016/j.foodchem.2009.03.109

Cosgrove, D. J. (1997). Assembly and enlargement of the primary cell wall in plants. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 13, 171-201.

Cosgrove, D. J. (2001). Wall structure and wall loosening. A look backwards and forwards. *Plant Physiology*, 125, 131-134.

- Crelrier, S.**, Robert, M. -C., Claude, J., y Juillerat, M. -A. (2001). Tomato (*Lycopersicon esculentum*) pectin methylesterase and polygalacturonase behaviors regarding heat- and pressure- induced inactivation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49, 5566-5575.
- Cumming, C. M.**, Rizkallah, H., McKendrick, K., Abdel-Massih, R. M., Baydoun, E. A. - H., y Brett, C. T. (2005). Biosynthesis and cell-wall deposition of a pectin-xyloglucan complex in pea. *Planta*, 222, 546-555.
- Cutillas-Iturralde, A.**, Zarra, I., y Lorences, E. P. (1993). Metabolism of cell wall polysaccharides from persimmon fruit. Pectin solubilization during fruit ripening occurs in apparent absence of polygalacturonase activity. *Physiologia Plantarum*, 89, 369-375. doi:10.1111/j.1399-3054.1993.tb00168.x
- de Ancos, B.**, Gonzales, E., y Cano, M. P. (2000). Effect of high-pressure treatment on the carotenoid composition and the radical scavenging activity of persimmon fruit purees. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 3542-3548.
- de Freitas, V.**, Carvalho, E., y Mateus, N. (2003). Study of carbohydrate influence on protein-tannin aggregation by nephelometry. *Food Chemistry*, 81, 503-509.
- de Menezes, E. W.**, Giuntini, E. B., Dan, M. C. T., Sardá, F. A. H., y Lajolo, F. M. (2013). Codex dietary fibre definition – Justification for inclusion of carbohydrates from 3 to 9 degrees of polymerisation. *Food Chemistry*, 140, 581-585. doi:10.1016/j.foodchem.2013.02.075
- de Moraes Crizel, T.**, Jablonski, A., de Oliveira Rios, A., Rech, R., y Hickmann Flôres, S. (2013). Dietary fiber from orange byproducts as a potential fat replacer. *LWT - Food Science and Technology*, 53(1), 9-14. doi:10.1016/j.lwt.2013.02.002
- De Roeck, A.**, Sila, D. N., Duvetter, T., Van Loey, A., y Hendrickx, M. (2008). Effect of high pressure/high temperature processing on cell wall pectic substances in relation to firmness of carrot tissue. *Food Chemistry*, 107(3), 1225-1235. doi:10.1016/j.foodchem.2007.09.076
- De Roeck, A.**, Duvetter, T., Fraeye, I., Van der Plancken, I., Sila, D. N., Van Loey, A., y Hendrickx, M. (2009). Effect of high-pressure/high-temperature processing on chemical pectin conversions in relation to fruit and vegetable texture, *Food Chemistry*, 115(1), 207-213.
- de Souza, E. L.**, de Souza, A. L. K., Tiecher, A., Girardi, C. L., Nora, L., da Silva, J. A.,... y Rombaldi, C. V. (2011). Changes in enzymatic activity, accumulation of proteins and softening of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) flesh as a function of pre-cooling acclimatization. *Scientia Horticulturae*, 127(3), 242-248. doi:10.1016/j.scienta.2010.09.025
- Del Bubba, M.**, Giordani, E., Pippucci, L., Cincinelli, A., Checchini, L., y Galvan, P. (2009). Changes in tannins, ascorbic acid and sugar content in astringent persimmons during on-tree growth and ripening and in response to different postharvest treatments. *Journal of Food Composition and Analysis*, 22(7-8), 668-677. doi:10.1016/j.jfca.2009.02.015

Denès, J. -M., Baron, A., y Drilleau, J. -F. (2000). Purification, properties and heat inactivation of pectin methylesterase from apple (cv Golden Delicious). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80, 1503-1509.

Derbyshire, P., McCann, M. C., y Roberts, K. (2007). Restricted cell elongation in *Arabidopsis* hypocotyls is associated with a reduced average pectin esterification level. *BMC Plant Biology*, 7(31). doi:10.1186/1471-2229-7-31

Dewanjee, S., Das, A. K., Sahu, R., y Gangopadhyay, M. (2009). Antidiabetic activity of *Diospyros peregrine* fruit: Effect on hyperglycemia, hyperlipidemia and augmented oxidative stress in experimental type 2 diabetes. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10), 2679-2685. doi:10.1016/j.fct.2009.07.038

Deytieux-Belleau, C., Vallet, A., Donèche, B., y Geny, L. (2008). Pectin methylesterase and polygalacturonase in the developing grape skin. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46(7), 638-646. doi:10.1016/j.plaphy.2008.04.008

Dhingra, D., Michael, M., Rajput, H., y Patil, R. T. (2012). Dietary fibre in foods: a review. *Journal of Food Science and Technology*, 49(3), 255-266. doi:10.1007/s13197-011-0365-5

DOCV (Diari Oficial de la Comunitat Valenciana) (2010). Pliego de condiciones de la denominación de origen “Kaki Ribera del Xúquer” (nº 6388 de 2/11/2010).

Dong, T., Xia, R., Wang, M., Xiao, Z., y Liu, P. (2008). Changes in dietary fibre, polygalacturonase, cellulase of navel orange (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck ‘Cara Cara’) fruits under different storage conditions. *Scientia Horticulturae*, 116(4), 414-420. doi:10.1016/j.scienta.2008.03.006

Draye, M., y Van Cutsem, P. (2008). Pectin methylesterases induce an abrupt increase of acidic pectin during strawberry fruit ripening. *Journal of Plant Physiology*, 165(11), 1152-1160. doi:10.1016/j.jplph.2007.10.006

Duan, J., Wang, X., Dong, Q., Fang, J., y Li, X. (2003). Structural features of a pectic arabinogalactan with immunological activity from the leaves of *Diospyros kaki*. *Carbohydrate Research*, 338, 1291-1297.

Duvetter, T., Fraeye, I., Sila, D. N., Verlent, I., Smout, C., Hendrickx, M., y Van Loey, A. (2006). Mode of de-esterification of alkaline and acidic pectin methyl esterases at different pH conditions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(20), 7825-7831.

EFSA (European Food Safety Authority) (2010). Scientific opinion on dietary reference values for carbohydrates and dietary fibre. *EFSA Journal*, 8(3): 1462, 1-77.

Eim, V. S., Simal, S., Rosselló, C., y Femenia, A. (2008). Effects of addition of carrot dietary fibre on the ripening process of a dry fermented sausage (sobrassada). *Meat Science*, 80(2), 173-182. doi:10.1016/j.meatsci.2007.11.017

Elizondo-Montemayor, L., Hernández-Brenes, C., Ramos-Parra, P. A., Moreno-Sánchez, D., Nieblas, B., Rosas-Pérez, A. M., y Lamadrid-Zertuche, A. C. (2015). High hydrostatic pressure processing reduces the glycemic index of fresh mango puree in healthy subjects. *Food and Function*, 6, 1352-1360. doi:10.1039/c4fo01005a

- Elleuch, M.**, Besbes, S., Roiseux, O., Blecker, C., Deroanne, C., Drira, N. -E., y Attia, H. (2008). Date flesh: Chemical composition and characteristics of the dietary fibre. *Food Chemistry*, 111(3), 676-682. doi:10.1016/j.foodchem.2008.04.036
- Elleuch, M.**, Bedigian, D., Roiseux, O., Besbes, S., Blecker, C., y Attia, H. (2011). Dietary fibre and fibre-rich by-products of food processing: Characterisation, technological functionality and commercial applications: A review. *Food Chemistry*, 124, 411-421. doi:10.1016/j.foodchem.2010.06.077
- Es-Safi, N. -E.**, Fulcrand, H., Cheynier, V., y Moutounet, M. (1999). Competition between (+)-catechin and (-)-epicatechin in acetaldehyde-induced polymerization of flavanols. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 2088-2095.
- Escobedo-Avellaneda, Z.**, Pateiro-Moure, M., Chotyakul, N., Torres, J. A., Welti-Chanes, J., y Pérez-Lamela, C. (2011). Benefits and limitations of food processing by high-pressure technologies: effects on functional compounds and abiotic contaminants. *CyTA - Journal of Food*, 9(4), 351-364. doi:10.1080/19476337.2011.616959
- Escudero, E.**, y González, P. (2006). La fibra dietética. *Nutrición Hospitalaria*, 21(2), 61-72.
- Escutia, M.** (2000). El incremento en la producción de caqui recomienda buscar nuevas salidas. *Comunitat Valenciana agraria*, 15, 53-56.
- Eskin, N. A. M.** (2012). *Biochemistry of Foods*. USA: Academic Press.
- Esteban, R. M.**, Mollá, E., Valiente, C., Jaime, L., López-Andréu, F. J., y Martín-Cabrejas, M. A. (1998). Dietary fibre: chemical and physiological aspects. *Recent Research Developments in Agricultural and Food Chemistry*, 2, 293-308.
- European Commission** (2006). Regulation (EC) n° 1924/2006 of the European Parliament and of the Council of 20 December 2006 on nutrition and health claims made on foods. *Official Journal of the European Union*, L404, 9-25.
- European Commission** (2008). Commission Directive 2008/100/EC of 28 October 2008 amending Council Directive 90/496/EEC on nutrition labelling for foodstuffs as regards recommended daily allowances, energy conversion factors and definitions. *Official Journal of the European Union*, L285, 9-13.
- Fachin, D.**, Van Loey, A. M., Ly-Nguyen, B., Verlent, I., Indrawati, I., y Hendrickx, M. E. (2002). Comparative study of the inactivation kinetics of pectinmethylesterase in tomato juice and purified form. *Biotechnology Progress*, 18, 739-744.
- FAO/WHO** (2007). Scientific update on carbohydrates in human nutrition. *European Journal of Clinical Nutrition*, 61(1), S1-S4. doi:10.1038/sj.ejcn.1602935
- FAOSTAT** (Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura) (2015). Production. <http://faostat.fao.org/> (acceso el 11/08/2015).
- Femenia, A.**, Sastre-Serrano, G., Simal, S., Garau, M. C., Eim, V. S., y Rosselló, C. (2009). Effects of air-drying temperature on the cell walls of kiwifruit processed at different stages of ripening. *LWT - Food Science and Technology*, 42(1), 106-112. doi:10.1016/j.lwt.2008.05.022

FEPEX (Federación Española de Asociaciones de Productores Exportadores de Frutas, Hortalizas, Flores y Plantas vivas) (2015). <http://www.fepex.es> (acceso el 11/08/2015).

Ferguson, L. R., y Harris, P. J. (1997). Particle size of wheat bran in relation to colonic function in rats. *LWT - Food Science and Technology*, 30(7), 735-742. doi:10.1006/fstl.1997.0260

Fernández García, A., Butz, P., y Tauscher, B. (2001). Effects of high-pressure processing on carotenoid extractability, antioxidant activity, glucose diffusion, and water binding of tomato puree (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Journal of Food Science*, 66(7), 1033-1038. doi:10.1111/j.1365-2621.2001.tb08231.x

Figueroa, C. R., Rosli, H. G., Civello, P. M., Martínez, G. A., Herrera, R., y Moya-León, M. A. (2010). Changes in cell wall polysaccharides and cell wall degrading enzymes during ripening of *Fragaria chiloensis* and *Fragaria × ananassa* fruits. *Scientia Horticulturae*, 124(4), 454-462. doi:10.1016/j.scienta.2010.02.003

Figuerola, F., Hurtado, M. L., Estévez, A. M., Chiffelle, I., y Asenjo, F. (2005). Fibre concentrates from apple pomace and citrus peel as potential fibre sources for food enrichment. *Food Chemistry*, 91(3), 395-401. doi:10.1016/j.foodchem.2004.04.036

Fine, A. M. (2000). Oligomeric proanthocyanidin complexes: history, structure, and phytopharmaceutical applications, *Alternative Medicine Review*, 5(2), 144-151.

Fleury, N., y Lahaye, M. (1991). Chemical and physico-chemical characterisation of fibres from *Lamaria digitata* (Kombu Breton): A physiological approach. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 55, 389-400. doi: 10.1002/jsfa.2740550307

Fraeye, I., Knockaert, G., Van Buggenhout, S., Duvetter, T., Hendrickx, M., y Van Loey, A. (2009). Enzyme infusion and thermal processing of strawberries: Pectin conversions related to firmness evolution. *Food Chemistry*, 114(4), 1371-1379. doi:10.1016/j.foodchem.2008.11.041

Fries, M., Ihrig, J., Brocklehurst, K., Shevchik, V. E., y Pickersgill, R. W. (2007). Molecular basis of the activity of the phytopathogen pectin methylesterase. *EMBO Journal*, 26(17), 3879-3887.

Fuentes-Zaragoza, E., Riquelme-Navarrete, M. J., Sánchez-Zapata, E., y Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Resistant starch as functional ingredient: A review. *Food Research International*, 43, 931-942. doi:10.1016/j.foodres.2010.02.004

Fügel, R., Carle, R., y Schieber, A. (2004). A novel approach to quality and authenticity control of fruit products using fractionation and characterisation of cell wall polysaccharides. *Food Chemistry*, 87(1), 141-150. doi:10.1016/j.foodchem.2003.10.031

Fukuda, H. (Ed.) (2014). *Plant cell wall patterning and cell shape*. Wiley-Blackwell. doi: 10.1002/9781118647363

- Fukushima, T.**, Kitamura, T., Murayama, H., y Yoshida, T. (1991). Mechanisms of astringency removal by ethanol treatment in 'Hiratanenashi' kaki fruits. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 60, 685-694.
- Galindo, F. G.**, Bråthen, E., Knutsen, S. H., Sommarin, M., Gekas, V., y Sjöholm, I. (2004). Changes in the carrot (*Daucus carota* L. cv. Nerac) cell wall during storage. *Food Research International*, 37(3), 225-232. doi:10.1016/j.foodres.2003.11.006
- Garau, M. C.**, Simal, S., Rosselló, C., y Femenia, A. (2007). Effect of air-drying temperature on physico-chemical properties of dietary fibre and antioxidant capacity of orange (*Citrus aurantium* v. Canoneta) by-products. *Food Chemistry*, 104(3), 1014-1024. doi:10.1016/j.foodchem.2007.01.009
- García, M. L.**, Domínguez, R., Galvez, M. D., Casas, C., y Selgas, M. D. (2002). Utilization of cereal and fruit fibres in low fat dry fermented sausages. *Meat Science*, 60(3), 227-236. doi:10.1016/S0309-1740(01)00125-5
- Generalitat Valenciana** (2015). Conselleria de Agricultura, Medio Ambiente, Cambio Climático y Desarrollo Rural. C.D.R.O.P. Kaki Ribera del Xúquer. <http://www.agricultura.gva.es/> (acceso 11/08/2015)
- Geny, L.**, Saucier, C., Bracco, S., Daviaud, F., y Glories, Y. (2003). Composition and cellular localization of tannins in grape seeds during maturation. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51, 8051-8054.
- George, A.**, y Redpath, S. (2008). Health and medicinal benefits of persimmon fruit: A review. *Advances in Horticultural Science*, 22(4), 244-249.
- Gilbert, H. J.** (2010). The biochemistry and structural biology of plant cell wall deconstruction. *Plant Physiology*, 153, 444-455.
- Giordani, E.** (2003). El caqui: diversificación varietal para un cultivo en desarrollo. *Comunitat Valenciana agraria*, 22, 22-34.
- Giordani, E.**, Doumet, S., Nin, S., y Del Bubba, M. (2011). Selected primary and secondary metabolites in fresh persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.): A review of analytical methods and current knowledge of fruit composition and health benefits. *Food Research International*, 44(7), 1752-1767. doi:10.1016/j.foodres.2011.01.036
- Glover, H.**, y Brady, C. J. (1995). Pectinesterases from mature, unripe peach fruit bind strongly to pectic polysaccharides. *Journal of Plant Physiology*, 22, 977-985.
- Gómez-Martínez, S.**, Díaz, L. E., Wärnberg, J., Romeo, J., y Marcos, A. (2008). Efectos fisiológicos de la fibra soluble. En Libro Blanco de la Fibra Dietética (Corporación Alimentaria Peñasanta, S.A.) (pp. 41-48). Granda, Principado de Asturias.
- González, E.**, Vegara, S., Martí, N., Valero, M., y Saura, D. (2015). Physicochemical characterization of pure persimmon juice: nutritional quality and food acceptability. *Journal of Food Science*, 80(3), 532-439.

Gorinstein, S., Moshe, R., Weisz, M., Hilevitz, J., Tilis, K., Feintuch, D., Bavli, D., y Amram, D. (1993). Effect of processing variables on the characteristics of persimmon liqueur. *Food Chemistry*, 46(2), 183-188. doi:10.1016/0308-8146(93)90034-D

Gorinstein, S., Kulasek, G. W., Bartnikowska, E., Leontowicz, M., Zemser, M., Morawiec, M., y Trakhtenberg, S. (1998). The influence of persimmon peel and persimmon pulp on the lipid metabolism and antioxidant activity of rats fed cholesterol. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 9(4), 223-227.

Gorinstein, S., Zemser, M., Haruenkit, R., Chuthakorn, R., Grauer, F., Martin-Belloso, O., y Trakhtenberg, S. (1999). Comparative content of total polyphenols and dietary fiber in tropical fruits and persimmon. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 10(6), 367-371. doi:10.1016/S0955-2863(99)00017-0

Gorinstein, S., Zachwieja, Z., Folta, M., Barton, H., Piotrowicz, J., Zemser, M.,... y Martín-Belloso, O. (2001). Comparative content of dietary fiber total phenolics and minerals in persimmon and apples. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(2), 952-957. doi:10.1021/jf000947k

Goulao, L. F., y Oliveira, C. M. (2008). Cell wall modifications during fruit ripening: when a fruit is not the fruit. *Trends in Food Science and Technology*, 19(1), 4-25. doi:10.1016/j.tifs.2007.07.002

Gray, J. (2006). *Dietary fibre. Definition, analysis, physiology and health*. Brussels: ILSI.

Grigeldo-Miguel, N., y Martín-Belloso, O. (1998). Characterization of dietary fiber from orange juice extraction. *Food Research International*, 31(5), 355-361. doi:10.1016/S0963-9969(98)00087-8

Grigeldo-Miguel, N., Ibarz-Ribas, A., y Martín-Belloso, O. (1999a). Rheology of peach dietary fibre suspensions. *Journal of Food Engineering*, 39, 91-99. doi:10.1016/S0260-8774(98)00151-4

Grigeldo-Miguel, N., y Martín-Belloso, O. (1999b). Influence of fruit dietary fiber addition on physical and sensorial properties of strawberry jams. *Journal of Food Engineering*, 41, 13-21. doi:10.1016/S0260-8774(99)00067-9

Grigeldo-Miguel, N., Gorinstein, S., y Martín-Belloso, O. (1999c). Characterisation of peach dietary fibre concentrate as a food ingredient. *Food Chemistry*, 65(2), 175-181. doi:10.1016/S0308-8146(98)00190-3

Gross, K. C. (1982). A rapid and sensitive spectrophotometric method for assaying polygalacturonase using 2-cyanoacetamide. *HortScience*, 17(6), 933-934.

Gross, G. G. (2008). From lignins to tannins: Forty years of enzyme studies on the biosynthesis of phenolic compounds. *Phytochemistry*, 69, 3018-3031.

Guillon, F., y Champ, M. (2000). Structural and physical properties of dietary fibres, and consequences of processing on human physiology. *Food Research International*, 33, 233-245. doi:10.1016/S0963-9969(00)00038-7

- Gwanpua, S. G.**, Van Buggenhout, S., Verlinden, B. E., Christiaens, S., Shpigelman, A., Vicent, V.,... y Geeraerd, A. (2014). Pectin modifications and the role of pectin-degrading enzymes during postharvest softening of Jonagold apples. *Food Chemistry*, 158, 283-291. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.02.138
- Hanlin, R. L.**, Hrmova, M., Harbertson, J. F., y Downey, M. O. (2010). Review: Condensed tannin and grape cell wall interactions and their impact on tannin extractability into wine. *Australian Journal of Grape and Wine Research*, 16, 173-188.
- Harris, P. J.**, Vallappilakkandy, K. S., Roberton, A. M., Triggs, C. M., Blakeney, A. B., y Ferguson, L. R. (1998). Adsorption of a hydrophobic mutagen to cereal brans and cereal bran dietary fibres. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 412(3), 323-331. doi:10.1016/S1383-5718(98)00003-5
- Harris, P. J.** (2005). Diversity in plant cell walls. En R. J. Henry (Ed.), *Plant diversity and evolution: genotypic and phenotypic variation in higher plants* (pp. 201-227). Wallingford, Oxon, UK: CAB International Publishing.
- Harris, P. J.**, y Smith, B. G. (2006). Plant cell walls and cell-wall polysaccharides: structures, properties and uses in food products. *International Journal of Food Science and Technology*, 41(2), 129-143.
- Harris, P. J.** (2009). Chapter 3 - Cell-wall Polysaccharides of Potatoes. En J. Singh, y L. Kaur (Eds.), *Advances in Potato Chemistry and Technology* (pp. 63-81). San Diego: Academic Press.
- Haslam, E.** (1998), *Practical polyphenolics. From structure to molecular recognition and physiological action*, Cambridge: Cambridge University Press
- Hatfield, R. D.**, y Fukushima, R. S. (2005). Can lignin be accurately measured? *Crop Science*, 45, 832-838.
- Hauener, H.**, Bechthold, A., Boeing, H., Brönstrup, A., Buyken, A., Leschik-Bonnet, E.,... y Wolfram, G. (2012). Evidence-based guideline of the German nutrition society: Carbohydrate intake and prevention of nutrition-related diseases. *Annals of Nutrition and Metabolism*, 60(1), 1-58. doi: 10.1159/000335326
- Heinz, V.**, y Buckow, R. (2010). Food preservation by high pressure. *Journal of Consumer Protection and Food Safety*, 5, 73-81.
- Hernández-Carrión, M.**, Tárrega, A., Hernando, I., Fiszman, S. M., y Quiles, A. (2014a). High hydrostatic pressure treatment provides persimmon good characteristics to formulate milk-based beverages with enhanced functionality. *Food and Function*, 5, 1250-1260. doi: 10.1039/c3fo60625b
- Hernández-Carrión, M.**, Hernando, I., y Quiles, A. (2014b). High hydrostatic pressure treatment as an alternative to pasteurization to maintain bioactive compound content and texture in red sweet pepper. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 26, 76-85. doi:10.1016/j.ifset.2014.06.004

Hernández-Carrión, M., Vázquez-Gutiérrez, J. L., Hernando, I., y Quiles, A. (2014c). Impact of high hydrostatic pressure and pasteurization on the structure and the extractability of bioactive compounds of persimmon "Rojo Brillante". *Journal of Food Science*, 79(1), C32-C38. doi: 10.1111/1750-3841.12321

Hernández-Carrión, M., Varela, P., Hernando, I., Fiszman, S. M., y Quiles, A. (2015). Persimmon milkshakes with enhanced functionality: Understanding consumers' perception of the concept and sensory experience of a functional food. *LWT - Food Science and Technology*, 62(1), 384-392. doi:10.1016/j.lwt.2014.10.063

Holzwarth, M., Korhummel, S., Carle, E., y Kammerer, D. R. (2012). Impact of enzymatic mash maceration and storage on anthocyanin and color retention of pasteurized strawberry purées. *European Food Research and Technology*, 234, 207-222. doi:10.1007/s00217-011-1601-y

Hooper, L. V., y Macpherson, A. J. (2010). Immune adaptations that maintain homeostasis with the intestinal microbiota. *Nature Reviews Immunology*, 10(3), 159-169.

Huber, D. J., Karakurt, Y., y Jeong, J. (2001). Pectin degradation in ripening and wounded fruits. *Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal*, 13(2), 224-241.

Hui, Y. H. (Ed.) (2006). *Handbook of Fruits and Fruit Processing*. Blackwell Publishing. doi:10.1002/9780470277737

Huisman, M. H., Brüll, L. P., Thomas-Oates, J. E., Haverkamp, J., Schols, H. A., y Voragen, A. J. (2001). The occurrence of internal (1→5)-linked arabinofuranose and arabinopyranose residues in arabinogalactan side chains from soybean pectic substances. *Carbohydrate Research*, 330, 103-114.

Hutton, C.W. y Campbell, A.M. (1981). Protein functionality in foods, water and fat absorption. *American Association of Chemistry Society Symposium Series*, 147, 177-200.

Hyodo, H., Terao, A., Furukawa, J., Sakamoto, N., Yurimoto, H., Satoh, S., e Iwai, H. (2013). Tissue specific localization of pectin-Ca²⁺ cross-linkages and pectin methyl-esterification during fruit ripening in tomato (*Solanum lycopersicum*). *PLOS ONE*, 8(11), e78949. doi: 10.1371/journal.pone.0078949

Iberfluid (2015). Iberfluid instruments. Medición de la actividad del agua. http://www.iberfluid.com/consierge/docs/1458_articles_786_Actividad%20del%20agua.pdf (acceso 17/09/2015)

Igual, M., Castelló, M. L., Ortolá, M. D., y Andrés, A. (2011). Some quality aspects of persimmon jam manufactured by osmotic dehydration without thermal treatment. *International Journal of Food Engineering*, 7(5), article 7. doi:10.2202/1556-3758.2150

Institute of Medicine (2001). *Dietary Reference Intakes: Proposed definition of dietary Fiber*, Washington, D. C., USA: National Academy Press.

Ishii, T., y Matsunaga, T. (1996). Isolation and characterization of a boron-rhamnogalacturonan-II complex from cell walls of sugar beet pulp. *Carbohydrate Research*, 284, 1-9.

- Ishii, T.**, y Kaneko, S. (1998). Oligosaccharides generated by partial hydrolysis of the borate-rhamnogalacturonan II complex from sugar beet. *Phytochemistry*, *49*, 1195-1202.
- Ishii, T.**, y Matsunaga, T. (2001). Pectic polysaccharide rhamnogalacturonan II is covalently linked to homogalacturonan. *Phytochemistry*, *57*, 969-974.
- Iwai, H.**, Masaoka, N., Ishii, T., y Satoh, S. (2002). A pectin glucuronyltransferase gene is essential for intercellular attachment in the plant meristem. *PNAS*, *99*(25), 16319-16324. doi: 10.1073/pnas.252530499
- Iwai, H.**, Hokura, A., Oishi, M., Chida, H., Ishii, T., Sakai, S., y Satoh, S. (2006). The gene responsible for borate cross-linking of pectin Rhamnogalacturonan-II is required for plant reproductive tissue development and fertilization. *PNAS*, *103*(44), 16592-16597. doi:10.1073/pnas.0605141103
- Jaeger, H.**, Janositz, A., y Knorr, D. (2010). The Maillard reaction and its control during food processing. The potential of emerging technologies, *Pathologie Biologie*, *58*(3), 207-213. doi:10.1016/j.patbio.2009.09.016
- Jaime, L.** (2000). Análisis de carbohidratos en bulbos de cebolla (*Allium cepa* L.) Aprovechamiento como fuente de fibra alimentaria. Tesis Doctoral. Departamento de Química Agrícola, Universidad Autónoma de Madrid, Madrid, España.
- Jaime, L.**, Mollá, E., Fernández, A., Martín-Cabrejas, M. A., López-Andréu, F. J., y Esteban, R. M. (2002). Structural carbohydrate differences and potential source of dietary fiber of onion (*Allium cepa* L.) tissues. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, *50*, 122-128.
- Jarvis, M. C.** (1984). Structure and properties of pectin gels in plant cell walls. *Plant, Cell and Environment*, *7*, 153-164. doi: 10.1111/1365-3040.ep11614586
- Jarvis, M. C.** (2009). Plant cell walls: supramolecular assembly, signalling and stress. *Structural Chemistry*, *20*, 245-253.
- Jarvis, M. C.** (2011). Plant cell walls: supramolecular assemblies. *Food Hydrocolloids*, *25*, 257-262.
- Jenkins, D. J. A.**, Axelsen, M., Kendall, C. W. C., Augustin, L. S. A., Vuksan, V., y Smith, U. (2000). Dietary fibre, lente carbohydrates and the insulin-resistant diseases. *British Journal of Nutrition*, *83*(1), S157-S63. doi: 10.1017/S0007114500001100
- Jeong, H. S.**, Chung, H. S., Lee, H. D., Seong, J. H., y Choi, J. U. (2001). Controlled atmosphere storage and modified atmosphere packaging of astringency- removed persimmons. *Food Science and Biotechnology*, *10*, 380-386.
- Jetter, R.**, Kunst, L., y Samuels, A. L. (2006). Composition of plant cuticular waxes. En M. Riederer, y C. Muller (Eds.), *Biology of the Plant Cuticle*, Annual Plant Reviews, *23* (pp. 145-181). Wiley-Blackwell.
- Jiménez-Escrig, A.**, y Sánchez-Muniz, F. J. (2000). Dietary fibre from edible seaweeds: Chemical structure, physicochemical properties and effects on cholesterol metabolism. *Nutrition Research*, *20*, 585-598. doi:10.1016/S0271-5317(00)00149-4

- Jiménez-Sánchez, C.**, Lozano-Sánchez, J., Marti, N., Saura, D., Valero, M., Segura-Carretero, A., y Fernández-Gutiérrez, A. (2015). Characterization of polyphenols, sugars, and other polar compounds in persimmon juices produced under different technologies and their assessment in terms of compositional variations. *Food Chemistry*, 182, 282-291. doi:10.1016/j.foodchem.2015.03.008
- Johnson, K. L.**, Jones, B. J., Schultz, C. J., y Bacic, A. (2003). Non-enzymatic cell wall (glycol) proteins. En J. K. C. Rose (Ed.), *The plant cell wall* (pp. 111-154). New York: Blackwell Publishing.
- Jolie, R. P.**, Duvetter, T., Houben, K., Clynen, E., Sila, D. N., Van Loey, A. M., y Hendrickx, M. E. (2009). Carrot pectin methylesterase and its inhibitor from kiwi fruit: Study of activity, stability and inhibition. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 10(4), 601-609. doi:10.1016/j.ifset.2009.02.003
- Jolie, R. P.**, Duvetter, T., Van Loey, A. M., y Hendrickx, M. E. (2010). Pectin methylesterase and its proteinaceous inhibitor: a review. *Carbohydrate Research*, 345(18), 2583-2595. doi:10.1016/j.carres.2010.10.002
- Jolie, R. P.**, Christiaens, S., De Roeck, A., Fraeye, I., Houben, K., Van Buggenhout, S.,... y Hendrickx, M. E. (2012). Pectin conversions under high pressure: Implications for the structure-related quality characteristics of plant-based foods. *Trends in Food Science and Technology*, 24(2), 103-118. doi:10.1016/j.tifs.2011.11.003
- Jones, L.**, Milne, J. L., Ashford, D. y McQueen-Mason, S. J. (2003). Cell wall arabinan is essential for guard cell function. *PNAS*, 100(20), 11783-11788. doi:10.1073/pnas.1832434100
- Julián-González, I.** (2003). *Diccionario de Química (Diccionarios Oxford-Complutense)*. España: Editorial Complutense S. A.
- Kakifruit** (2015). El kaki con D.O. <http://kakifruit.com/> (acceso 13/08/2015)
- Karakaya, S.**, y Kavaz, A. (1999). Adsorption of direct-acting and indirect- acting mutagens by various dietary fibers. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 50, 319-323.
- Karaman, S.**, Toker, Ö. S., Yüksel, F., Çam, M., Kayacier, A., y Dogan, M. (2014). Physicochemical, bioactive, and sensory properties of persimmon-based ice cream: Technique for order preference by similarity to ideal solution to determine optimum concentration. *Journal of Dairy Science*, 97, 97-110.
- Keegstra, K.**, Talmadge, K. W., Bauer, W. D., y Albersheim, P. (1973). The structure of plant cell walls. III. A model of the walls of suspension-cultured sycamore cells based on the interconnections of the macromolecular components. *Plant Physiology*, 51, 188-196.
- Kelly, G.** (2008). Inulin-Type Prebiotics – A Review: Part 1. *Alternative Medicine Review*, 13(4), 315-329.
- Kendall, C. W. C.**, Esfahani, A., y Jenkins, D. J. A. (2010). The link between dietary fibre and human health. *Food Hydrocolloids*, 24(1), 42-48. doi:10.1016/j.foodhyd.2009.08.002

- Kinsella, J. E.** (1976). Functional properties of proteins in foods: a survey. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 7, 219-280.
- Knorr, D.,** Heinz, V., y Buckow, R. (2006). High pressure application for food biopolymers. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Proteins and Proteomics*, 1764(3), 619-631. doi:10.1016/j.bbapap.2006.01.017
- Kosmala, M.,** Milala, J., Kolodziejczyk, K., Markowski, J., Zbrzeźniak, M., y Renard, C. M. G. C. (2013). Dietary fiber and cell wall polysaccharides from plum (*Prunus domestica* L.) fruit, juice and pomace: Comparison of composition and functional properties for three plum varieties. *Food Research International*, 54(2), 1787-1794. doi:10.1016/j.foodres.2013.10.022
- Koubala, B. B.,** Kansci, G., Garnier, C., Thibault, J. -F., y Ralet, M. -C. (2013). Physicochemical properties of dietary fibres prepared from ambarella (*Spondias cytherea*) and mango (*Mangifera indica*) peels. *Food Bioprocess Technology*, 6, 591-597. doi:10.1007/s11947-011-0660-1
- Kurz, C.,** Carle, R., y Schieber, A. (2008). Characterisation of cell wall polysaccharide profiles of apricots (*Prunus armeniaca* L.), peaches (*Prunus persica* L.), and pumpkins (*Cucurbita* sp.) for the evaluation of fruit product authenticity. *Food Chemistry*, 106(1), 421-430. doi:10.1016/j.foodchem.2007.05.078
- Larrauri, J. A.,** Rodríguez, J. L., Fernández, M., y Borroto, B. (1994). Note. Dietary fiber obtained from citrus husk and pineapple peel. *Revista española de ciencia y tecnología de alimentos*, 24(1), 102-107.
- Larrauri, J. A.,** Rupérez, P., Borroto, B., y Saura-Calixto, F. (1996). Mango peels as a new tropical fibre: preparation and characterization. *LWT - Food Science and Technology*, 29(8). doi:10.1006/fstl.1996.0113
- Larrauri, J. A.** (1999). New approaches in the preparation of high dietary fibre powders from fruit by-products. *Trends in Food Science and Technology*, 10(1), 3-8. doi:10.1016/S0924-2244(99)00016-3
- Lau, J. M.,** McNeil, M., Darvill, A. G., y Albersheim, P. (1985). Structure of the backbone of rhamnogalacturonan I, a pectic polysaccharide in the primary cell walls of plants. *Carbohydrate Research*, 137, 111-125.
- Le Bourvellec, C.,** Guyot, S., y Renard, C. M. G. C. (2004). Non-covalent interaction between procyanidins and apple cell wall material. Part I. Effect of some environmental parameters. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1672, 192-202.
- Le Bourvellec, C.,** Bouchet, B., y Renard C. M. (2005). Non-covalent interaction between procyanidins and cell wall material. Part III: Study on model polysaccharides. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1725, 10-18.

Le Bourvellec, C., Le Quere, J. -M., y Renard, C. M. G. C. (2007). Impact of noncovalent interactions between apple condensed tannins and cell walls on their transfer from fruit to juice: studies in model suspensions and application. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 55, 7896-7904.

Le Bourvellec, C., Guyot, S., y Renard, C. M. G. C. (2009). Interactions between apple (*Malus x domestica* Borkh.) polyphenols and cell walls modulate the extractability of polysaccharides. *Carbohydrate Polymers*, 75, 251-261.

Le Bourvellec, C., Watrelot, A. A., Ginies, C., Imberty, A., y Renard C. M. G. C. (2012). Impact of processing on the noncovalent Interactions between procyanidin and apple cell wall. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 9484-9494.

Lee, S. -O., Chung, S. -K., y Lee, I. -S. (2006). The antidiabetic effect of dietary persimmon (*Diospyros kaki* L. cv. Sangjudungsi) peel in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Food Science*, 71(3), 293-298.

Leontowicz, H., Gorinstein, S., Lojek, A., Leontowicz, M., Číž, M., Soliva-Fortuny,... y Martín-Belloso, O. (2002). Comparative content of some bioactive compounds in apples, peaches and pears and their influence on lipids and antioxidant capacity in rats. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 13(10), 603-610. doi:10.1016/S0955-2863(02)00206-1

Lewis, N. G., y Yamamoto, E. (1990). Lignin: occurrence, biogenesis and biodegradation. *Annual Review of Plant Physiology*, 41, 455-496.

Li, P. M., Du, G. R., y Ma, F. W. (2011). Phenolics concentration and antioxidant capacity of different fruit tissues of astringent versus non-astringent persimmons. *Scientia Horticulturae*, 129(4), 710-714. doi:10.1016/j.scienta.2011.05.024

Li-Beisson, Y. (2011). *Cutin and Suberin*. Chichester, UK: John Wiley & Sons doi: 10.1002/9780470015902.a0001920.pub2

Liners, F., Letesson, J. J., Didembourg, C., y Van Cutsem, P. (1989). Monoclonal Antibodies against Pectin. *Plant Physiology*, 91, 1419-1424.

Liners, F., Thibault, J. -F., y van Cutsem, P. (1992). Influence of the degree of polymerization of oligogalacturonates and of esterification pattern of pectin on their recognition by monoclonal antibodies. *Plant Physiology*, 99, 1099-1104.

Llácer, G., y Badenes, M. L. (2003). Situación actual de la producción de caquis en el mundo. *Comunitat Valenciana agraria*, 22, 35-46.
<http://www.ivia.es/sdta/pdf/revista/frutales/22tema02.pdf> (acceso el 29/07/2015).

López, G., Ros, G., Rincón, F., Periago, M. J., Martínez, M. C., y Ortuño, J. (1996). Relationship between physical and hydration properties of soluble and insoluble fiber of artichoke. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 2773-2778.

Luo, Z. (2006). Extending shelf-life of persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit by hot air treatment. *European Food Research and Technology*, 222(1-2), 149-154. doi:10.1007/s00217-005-0156-1

- Luo, Z.** (2007). Effect of 1-methylcyclopropene on ripening of postharvest persimmon (*Diospyros kaki* L.) fruit. *LWT - Food Science and Technology*, 40(2), 285-291. doi:10.1016/j.lwt.2005.10.010
- Luo, Z., y Wang, R.** (2008). Persimmon in China: Domestication and traditional utilizations of genetic resources. *Advances in Horticultural Science*, 22(4), 239-243.
- Ly-Nguyen, B., Van Loey, A. M., Fachin, D., Verlent, I., Duvetter, T., Vu, S. T.,... y Hendrickx, M. E.** (2002). Strawberry pectin methylesterase (PME): purification, characterization, thermal and high-pressure inactivation. *Biotechnology Progress*, 18, 1447-1450.
- Ma, T., y Verkman, A. S.** (1999). Aquaporin water channels in gastrointestinal physiology. *Journal of Physiology*, 517(2), 317-326. doi: 10.1111/j.1469-7793.1999.0317t.x
- MAGRAMA** (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) (2012). Valoración nutricional de la dieta española de acuerdo al panel de consumo alimentario. Fundación española de la nutrición. Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente, 1-142 www.magrama.gob.es/es/alimentacion/temas/ (Acceso: 26/05/2015).
- MAGRAMA** (Ministerio de Agricultura, Alimentación y Medio Ambiente) (2015). Denominaciones de Origen e Indicaciones Geográficas Protegidas. <http://www.magrama.gob.es> (Acceso 11/08/2015).
- Majem, L. S., y Bartrina, J. A.** (2004). *Nutrición infantil y juvenil*. Barcelona, España: Masson.
- Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., y Jiménez, L.** (2004). Polyphenols: food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79, 727-747.
- Mann, J. I., y Cummings, J. H.** (2009). Possible implications for health of the different definitions of dietary fibre. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 19, 226-229. doi:10.1016/j.numecd.2009.02.002
- Mao, L. C., y Zhang, S. L.** (2001). Influence of intermittent low temperature stress on cell wall metabolism in peaches. *Acta Phytophysiological Sinica*, 27, 151-155.
- Margesin, R. y Schinner, F.** (Eds.). (2005). Manual of soil analysis - monitoring and assessing soil bioremediation. Alemania: Springer Science and Business Media.
- Marlett, J. A., y Navis, D.** (1988). Comparison of gravimetric and chemical analyses of total dietary fiber in human foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 36, 311-315.
- Martín-Cabrejas, M. A.** (1993). Evaluación de metodologías en el análisis de fibra alimentaria. Estudio de la pared celular vegetal (Tesis Doctoral). Universidad Autónoma de Madrid, España.
- Massiot, P., y Renard, C. M. G. C.** (1997). Composition, physico-chemical properties and enzymatic degradation of fibres prepared from different tissues of apple. *LWT - Food Science and Technology*, 30, 800-806.

Mateos, M. L. (2013). Relación estructura/actividad de proantocianidinas procedentes de fuentes naturales de origen vegetal (Tesis doctoral). Universidad de Barcelona, España.

Mateos-Aparicio, I., Mateos-Peinado, C. y Rupérez, P. (2010). High hydrostatic pressure improves the functionality of dietary fibre in okara by-product from soybean. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11(3), 445-450. doi:10.1016/j.ifset.2010.02.003

Matsumoto, K., Kadowaki, A., Ozaki, N., Takenaka, M., Ono, H., Yokoyama, S. I., y Gato, N. (2011). Bile acid-binding ability of kaki-tannin from young fruits of persimmon (*Diospyros kaki*) in vitro and in vivo. *Phytotherapy Research*, 25(4), 624-628. doi:10.1002/ptr.3306

Matsuo, T., Itoo, S., y Ben-Arie, R. (1991). A model experiment for elucidating the mechanism of astringency removal in persimmon fruit using respiration inhibitors. *Journal of the Japanese Society for Horticultural Science*, 60, 437-442.

McCann, M. C., Bush, M., Milioni, D., Sado, P., Stacey, N. J., Catchpole, G.,... y Roberts, K. (2001). Approaches to understanding the functional architecture of the plant cell wall. *Phytochemistry*, 57, 811-821.

McInerney, J. K., Seccafien, C. A., Stewart, C. M., y Bird, A. R. (2007). Effects of high pressure processing on antioxidant activity, and total carotenoid content and availability, in vegetables. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 8(4), 543-548. doi:10.1016/j.ifset.2007.04.005

McManus, J., Davis, K., Beart, J., Gaffney, S., Lilley, T., y Haslam, E. (1985). Polyphenols interactions. I. Introduction, some observations on the reversible complexation of polyphenols with proteins and polysaccharides. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 2*, 1429-1438. doi: 10.1039/P29850001429

McWatters, K. H. (1983). Physical and sensory characteristics of Akara processed from cowpea paste and Nigerian cowpea flour. *Cereal Chemistry*, 60, 333-336.

Micheli, F. (2001). Pectin methylesterases: cell wall enzymes with important roles in plant physiology. *Trends in Plant Science*, 6(9), 414-419. doi:10.1016/S1360-1385(01)02045-3

Mierczynska, J., Cybulska, J., Pieczywek, P. M., y Zdunek, A. (2015). Effect of storage on rheology of water-soluble, chelate-soluble and diluted alkali-soluble pectin in carrot cell walls. *Food Bioprocess Technology*, 8, 171-180. doi:10.1007/s11947-014-1392-9

Mir-Marqués, A., Domingo, A., Cervera, M. L., y de la Guardia, M. (2015). Mineral profile of kaki fruits (*Diospyros kaki* L.). *Food Chemistry*, 172, 291-297. doi:10.1016/j.foodchem.2014.09.076

Mohanty, S. y Nayak, S. K. (2011). Biobased composites and applications. En S. Kalia y L. Avérous (Eds.), *Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications* (pp. 225-266). Scrivener Publishing.

Mohnen, D. (2008). Pectin structure and biosynthesis. *Current Opinion in Cell Biology*, 11, 266-277.

- Molina, M. E.**, y Martín, A. P. (2007). La fibra dietética procesada como alimento funcional. *Offarm*, 26(1), 70-77.
- Morvan, O.**, Quentin, M., Jauneau, A., Mareck, A., y Morvan, C. (1998). Immunogold localization of pectin methylesterases in the cortical tissues of flax hypocotyl. *Protoplasma*, 202, 175-184.
- Nakamura, A.**, Furuta, H., Maeda, H., Takao, T., y Nagamatsu, Y. (2002). Structural studies by stepwise enzymatic degradation of the main backbone of soybean soluble polysaccharides consisting of galacturonan and rhamnogalacturonan. *Bioscience, Biotechnology, Biochemistry*, 66, 1301-1313.
- Nawirska, A.**, y Kwasniewska, M. (2005). Dietary fibre fractions from fruit and vegetable processing waste. *Food Chemistry*, 91, 221-225. doi:10.1016/j.foodchem.2003.10.005
- Neilson, M. J.**, y Marlett, J. M. (1983). A comparison between detergent and nondetergent analyses of dietary fiber in human foodstuffs, using high-performance liquid chromatography to measure neutral sugar composition. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 31(6), 1342-1347.
- Ng, A.**, y Waldron, K. W. (1997). Effect of cooking and precooking on cell-wall chemistry in relation to firmness of carrot tissues. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 73, 503-512.
- Ng, A.**, Parr, A. J., Ingham, L. M., Rigby, N. M., y Waldron, K. W. (1998). Cell wall chemistry of carrots (*Daucus carota* Cv. Amstrong) during maturation and storage. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46, 2933-2939.
- Nienaber, U.**, y Shellhammer, T. H. (2001). High-Pressure Processing of Orange Juice: Kinetics of Pectinmethylesterase Inactivation. *Journal of Food Science*, 66(2), 328-331.
- Nishiyama, Y.**, Langan, P., y Chanzy, H. (2002). Crystal structure and hydrogen-bonding system in cellulose I β from synchrotron X-ray and neutron fiber diffraction. *Journal of the American Chemical Society*, 124, 9074-9082.
- Novillo, P.**, Besada, C., Gil, R., y Salvador, A. (2013). Fruit quality and response to destringency treatment of eight persimmon varieties cultivated under spanish growing conditions. *Acta Horticulturae*, 996, 437-442.
- Novillo, P.**, Salvador, A., Llorca, E., Hernando, I., y Besada, C. (2014). Effect of CO₂ destringency treatment on flesh disorders induced by mechanical damage in persimmon. Biochemical and microstructural studies. *Food Chemistry*, 145, 454-463. doi:10.1016/j.foodchem.2013.08.054
- Novillo, P.**, Gil, R., Besada, C., y Salvador, A. (2015). Astringency removal of 'Rojo Brillante' persimmon by combining CO₂ and ethanol application. *Acta Horticulturae*, 1079, 599-604.
- Nunes, C.**, Saraiva, J. A., y Coimbra, M. A. (2008). Effect of candying on cell wall polysaccharides of plums (*Prunus domestica* L.) and influence of cell wall enzymes. *Food Chemistry*, 111(3), 538-548. doi:10.1016/j.foodchem.2008.04.016

Nunes, C., Rato, A. E., Barros, A. S., Saraiva, J. A., y Coimbra, M. A. (2009). Search for suitable maturation parameters to define the harvest maturity of plums (*Prunus domestica* L.): A case study of candied plums. *Food Chemistry*, 112(3), 570-574. doi:10.1016/j.foodchem.2008.06.007

Núñez-Mancilla, Y., Vega-Gálvez, A., Pérez-Won, M., Zura, L., García-Segovia, P., y Di Scala, K. (2014). Effect of Osmotic Dehydration Under High Hydrostatic Pressure on Microstructure, Functional Properties and Bioactive Compounds of Strawberry (*Fragaria Vesca*). *Food Bioprocess Technology*, 7, 516-524. doi:10.1007/s11947-013-1052-5

Øbro, J., Harholt, J., Scheller, H. V., y Orfila, C. (2004). Rhamnogalacturonan I in *Solanum tuberosum* tubers contains complex arabinogalactan structures. *Phytochemistry*, 65, 1429-1438.

Oechslein, R., Lutz, M. V., y Amado, R. (2003). Pectic substances isolated from apple cellulosic residue: structural characterisation of a new type of rhamnogalacturonan I. *Carbohydrate Polymers*, 51, 301-310.

Oey, I., Lille, M., van Loey, A., y Hendrickx, M. (2008a). Effect of high pressure processing on colour, texture and flavour of fruit and vegetable-based food products: A review. *Trends in Food Science and Technology*, 19, 320-328. doi:10.1016/j.tifs.2008.04.001

Oey, I., van der Plancken, I., van Loey, A., y Hendrickx, M. (2008b). Does high pressure processing influence nutritional aspects of plant based food systems? *Trends in Food Science and Technology*, 19, 300-308.

Önal, Y., Schimpf, S., y Claus, P. (2004). Structure sensitivity and kinetics of d-glucose oxidation to d-gluconic acid over carbon-supported gold catalysts. *Journal of Catalysis*, 223(1), 122-133. doi:10.1016/j.jcat.2004.01.010

O'Neill, M. A., y York, W. S. (2003). The composition and structure of plant primary cell walls. En J. K. C. Rose (Ed.), *The plant cell wall* (pp. 1-54). New York, USA: Blackwell Publishing.

O'Neill, M. A., Ishii, T., Albersheim, P., y Darvill, A. G. (2004). Rhamnogalacturonan II: structure and function of a borate cross-linked cell wall pectic polysaccharide. *Annual Review of Plant Biology*, 55, 109-139.

O'Shea, N., Arendt, E. K., y Gallagher, E. (2012). Dietary fibre and phytochemical characteristics of fruit and vegetable by-products and their recent applications as novel ingredients in food products. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 16, 1-10. doi:10.1016/j.ifset.2012.06.002

Park, Y. S., Jung, S. T., Kang, S. G., Delgado-Licon, E., Ayala, A. L. M., Tapia, M. S.,... y Gorinstein, S. (2006). Drying of persimmons (*Diospyros kaki* L.) and the following changes in the studied bioactive compounds and the total radical scavenging activities. *LWT - Food Science and Technology*, 39(7), 748-755. doi:10.1016/j.lwt.2005.05.014

- Park, Y. S.**, Leontowicz, H., Leontowicz, M., Namiesnik, J., Jesion, I., y Gorinstein, S. (2008). Nutraceutical value of persimmon (*Diospyros kaki* Thunb.) and its influence on some indices of atherosclerosis in an experiment on rats fed cholesterol-containing diet. *Advanced in Horticultural Science*, 22(4), 250-254.
- Payasi, A.**, y Sanwal, G.G. (2003). Pectate lyase activity during ripening of banana fruit. *Phytochemistry*, 63(3), 243-248. doi:10.1016/S0031-9422(03)00027-X
- Pelloux, J.**, Rustérucci, C., y Mellerowicz, E. J. (2007). New insights into pectin methylesterase structure and function. *Trends in Plant Science*, 12(6), 267-277. doi:10.1016/j.tplants.2007.04.001
- Perera, N.**, Gamage, T. V., Wakeling, L., Gamlath, G. G. S., y Versteeg, C. (2010). Colour and texture of apples high pressure processed in pineapple juice. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 11, 39-46.
- Pérez, S.**, Rodríguez-Carvajal, M. A., y Doco, T. (2003). A complex plant cell wall polysaccharide: rhamnogalacturonan II. A structure in quest of a function. *Biochimie*, 85, 109-121.
- Phillips, G. O.** (2011). An introduction: Evolution and finalisation of the regulatory definition of dietary fibre. *Food Hydrocolloids*, 25, 139-143. doi:10.1016/j.foodhyd.2010.04.011
- Piretti, M. V.** (1991). Polyphenol constituents of the *Diospyros kaki* fruit: A review. *Fitoterapia*, 62, 3-13.
- Plaza, L.**, Colina, C., de Ancos, B., Sánchez-Moreno, C., y Cano, M. P. (2012). Influence of ripening and astringency on carotenoid content of high-pressure treated persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). *Food Chemistry*, 130(3), 591-597. doi:10.1016/j.foodchem.2011.07.080
- Plumb, G. W.**, de Pascual-Teresa, S., Santos-Buelga, C., Cheynier, V., y Williamson, G. (1998). Antioxidant properties of catechins and proanthocyanidins: effect of polymerisation, galloylation and glycosylation. *Free Radical Research*, 29, 351-358.
- Polydera, A. C.**, Galanou, E., Stoforos, N. G., y Taoukis, P. S. (2004). Inactivation kinetics of pectin methylesterase of greek Navel orange juice as a function of high hydrostatic pressure and temperature process conditions. *Journal of Food Engineering*, 62(3), 291-298. doi:10.1016/S0260-8774(03)00242-5
- Popper, Z. A.**, y Fry, S. C. (2007). Xyloglucan - pectin linkages are formed intraprotoplasmically, contribute to wall-assembly, and remain stable in the cell wall. *Planta*, 227, 781-794.
- Popper, Z. A.**, Michel, G., Herve, C., Domozych, D. S., Willats, W. G. T., Tuohy, M. G.,... y Stengel, D. B. (2011). Evolution and diversity of plant cell walls: from algae to flowering plants. *Annual Review of Plant Biology*, 62, 567-588.

Prasanna, V., Prabha, T. N., y Tharanathan, R. N. (2006). Multiple forms of polygalacturonase from mango (*Mangifera indica* L. cv Alphonso) fruit. *Food Chemistry*, 95(1), 30-36. doi:10.1016/j.foodchem.2004.12.014

Qi, M. -F., Xu, T., Chen, W. -Z., y Li, T. -L. (2014). Ultrastructural localization of polygalacturonase in ethylene-stimulated abscission of tomato pedicel explants. *The Scientific World Journal*, 2014, 1-9. doi:10.1155/2014/389896

Quideau, S., Deffieux, D., Douat-Casassus, C., y Pouységu, L. (2011). Plant polyphenols: chemical properties, biological activities, and synthesis. *Angewandte Chemie International Edition*, 50, 586-621. doi:10.1002/anie.201000044

Raghavendra, S. N., Swamy, S. R. R., Rastogi, N. K., Raghavarao, K. S. M. S., Kumar, S., y Tharanathan, R. N. (2006). Grinding characteristics and hydration properties of coconut residue: A source of dietary fiber. *Journal of Food Engineering*, 72(3), 281-286. doi:10.1016/j.jfoodeng.2004.12.008

Ralph, J., Lundquist, K., Brunow, G., Lu, F., Kim, H., Schatz, P. F.,... y Boerjan, W. (2004). Lignins: natural polymers from oxidative coupling of 4-hydroxyphenyl-propanoids. *Phytochemistry Reviews*, 3, 29-60.

Ramiro-Puig, E., Pérez-Cano, F. J., Castellote, C., Franch, A., y Castell, M. (2008). El intestino: pieza clave del sistema inmunitario. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 100(1), 29-34.

Raven, P. H., Evert, R. F., y Eichhorn, S. E. (1992). *Biology of plants*. New York, USA: Worth Publishers.

Redgwell, R. J., Melton, L. D., y Brasch, D. J. (1992). Cell wall dissolution in ripening kiwifruit (*Actinidia deliciosa*). Solubilization of the pectic polymers. *Plant Physiology*, 98(1), 71-81.

Redgwell, R. J., y Fischer, M. (2005). Dietary fiber as a versatile food component: an industrial perspective. *Molecular Nutrition and Food Research*, 49, 521-535.

Regand, A., y Goff, H. D. (2003). Structure and ice recrystallisation in frozen stabilised ice cream model systems. *Food Hydrocolloids*, 17, 95-102. doi:10.1016/S0268-005X(02)00042-5

Renard, C. M., Baron, A., Guyot, S., y Drilleau, J. F. (2001). Interactions between apple cell walls and native apple polyphenols: quantification and some consequences. *International Journal of Biological Macromolecules*, 29(2), 115-125. doi:10.1016/S0141-8130(01)00155-6

Renard, C. M. G. C., y Ginies, C. (2009). Comparison of the cell wall composition for flesh and skin from five different plums. *Food Chemistry*, 114(3), 1042-1049. doi:10.1016/j.foodchem.2008.10.073

Ridley, B. L., O'Neill, M. A., y Mohnen, D. (2001). Pectins: structure, biosynthesis, and oligogalacturonide-related signaling. *Phytochemistry*, 57, 929-967.

- Rinaudo, M.** (1996). Physicochemical properties of pectins in solution and gel states. En J. Visser, y A. G. J. Voragen (Eds.), *Progress in Biotechnology* (pp. 21-33). Wageningen, The Netherlands: Elsevier.
- Riou, C.**, Vernhet, A., y Doco, T. (2002). Aggregation of grape seed tannins in model wine. Effect of wine polysaccharides. *Food Hydrocolloids*, 16, 17-23.
- Roberfroid, M.**, Gibson, G. R., Hoyles, L., McCartney, A. L., Rastall, R., Rowland, D.,... y Meheust, A. (2010). Prebiotic effects: Metabolic and health benefits. *British Journal of Nutrition*, 104(2), 1-63.
- Rodrigo, D.**, Cortés, C., Clynen, E., Schoofs, L., Van Loey, A., y Hendrickx, M. (2006). Thermal and high-pressure stability of purified polygalacturonase and pectinmethylesterase from four different tomato processing varieties. *Food Research International*, 39(4), 440-448. doi:10.1016/j.foodres.2005.09.007
- Rodríguez, R.**, Jiménez, A., Fernández-Bolaños, J., Guillén, R., y Heredia, A. (2006). Dietary fibre from vegetable products as source of functional ingredients. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 3-15.
- Rosell, C. M.**, Santos, E., y Collar, C. (2009). Physico-chemical properties of commercial fibres from different sources: a comparative approach. *Food Research International*, 42(1), 176-184. doi:10.1016/j.foodres.2008.10.003
- Ruiz-Roso, B.**, y Pérez-Olleros, L. (2010). Avance de resultados sobre consumo de fibra en España y beneficios asociados a la ingesta de fibra insoluble. *Revista Española de Nutrición Comunitaria*, 16(3), 147-153. doi:10.1016/S1135-3074(10)70032-6
- Rupasinghe, H. P. V.**, Wang, L., Huber, G. M., y Pitts, N. L. (2008). Effect of baking on dietary fibre and phenolics of muffins incorporated with apple skin powder. *Food Chemistry*, 107(3), 1217-1224. doi:10.1016/j.foodchem.2007.09.057
- Sajilata, M. G.**, Singhal, R. S., y Kulkarni, P. R. (2006). Resistant starch – A review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 5, 1-17. doi: 10.1111/j.1541-4337.2006.tb00076.x
- Sakamoto, T.**, y Sakai, T. (1995). Analysis of structure of sugar-beet pectin by enzymatic methods. *Phytochemistry*, 39, 821-823.
- Salvador, A.**, Arnal, L., Navarro, P., y Martínez-Jávega, J. M. (2006). Estado actual en la conservación de caqui “Rojo Brillante”. *Revista Iberoamericana de Tecnología Postcosecha*, 7(2), 86-92.
- Salvador, A.**, Arnal, L., Besada, C., Larrea, V., Quiles, A., y Pérez-Munuera, I. (2007). Physiological and structural changes during ripening and deastringency treatment of persimmon fruit cv. ‘Rojo Brillante’. *Postharvest Biology and Technology*, 46(2), 181-188. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.05.003

Salvador, A., Arnal, L., Besada, C., Larrea, V., Hernando, I., y Pérez-Munuera, I. (2008). Reduced effectiveness of the treatment for removing astringency in persimmon fruit when stored at 15°C: Physiological and microstructural study. *Postharvest Biology and Technology*, 49(3), 340-347. doi:10.1016/j.postharvbio.2008.01.015

San Martín, M. F., Barbosa-Cánovas, G. V., y Swanson, B. G. (2002). Food processing by high hydrostatic pressure. *Food Science and Nutrition*, 42(6), 627-645.

Sánchez-Alonso, I., Haji-Maleki, R., y Borderías, A. (2006). Effect of wheat fibre in frozen stored fish muscular gels. *European Food Research Technology*, 223, 571-576. doi:10.1007/s00217-005-0242-4

Sánchez-Alonso, I., Jiménez-Escrig, A., Saura-Calixto, F., y Borderías, A. J. (2007). Effect of grape antioxidant dietary fibre on the prevention of lipid oxidation in minced fish: Evaluation by different methodologies. *Food Chemistry*, 101, 372-378. doi:10.1016/j.foodchem.2005.12.058

Sánchez-Moreno, C., Plaza, L., de Ancos, B., Cano, M. P. (2003a). Vitamin C, provitamin A carotenoids, and other carotenoids in high-pressurized orange juice during refrigerated storage. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 647-653.

Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., de Ancos, B., Plaza, L., Olmedilla, B., Granado, F., y Martín, A. (2003b). High-pressurized orange juice consumption affects plasma vitamin C, antioxidative status and inflammatory markers in healthy humans. *Journal of Nutrition*, 133(7), 2204-2209.

Sánchez-Moreno, C., Cano, M. P., de Ancos, B., Plaza, L., Olmedilla, B., Granado, F., y Martín, A. (2004). Consumption of high-pressurized vegetable soup increases plasma vitamin C and decreases oxidative stress and inflammatory biomarkers in healthy humans. *Journal of Nutrition*, 134(11), 3021-3025.

Sánchez-Moreno, C., de Ancos, B., Plaza, L., Elez-Martínez, P., y Cano, M. P. (2009). Nutritional approaches and health-related properties of plant foods processed by high pressure and pulsed electric fields. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 49, 552-576. doi:10.1080/10408390802145526

Sandle, G. I. (1998). Salt and water absorption in the human colon: a modern appraisal. *Gut*, 43(2), 294-299. doi:10.1136/gut.43.2.294

Sangnark, A., y Noomhorm, A. (2003). Effect of particle sizes on functional properties of dietary fibre prepared from sugarcane bagasse. *Food Chemistry*, 80, 221-229. doi:10.1016/S0308-8146(02)00257-1

Sangnark, A., y Noomhorm, A. (2004). Chemical, physical and baking properties of dietary fiber prepared from rice straw. *Food Research International*, 37, 66-74. doi:10.1016/j.foodres.2003.09.007

Santos, J. G., Fernandes, F. A. N., Oliveira, L. S., y de Miranda, M. R. A. (2015). Influence of ultrasound on fresh-cut mango quality through evaluation of enzymatic and oxidative metabolism. *Food Bioprocess Technology*, 8, 1532-1542. doi:10.1007/s11947-015-1518-8

- Santos-Buelga, C.**, y de Freitas, V. (2009). Influence of phenolics on wine organoleptic properties. En M. V. Moreno-Arribas, y M. C. Polo (Eds.), *Wine Chemistry and Biochemistry* (pp. 529-570). Springer. doi:10.1007/978-0-387-74118-5
- Sáyago-Ayerdi, S. G.**, Brenes, A., y Goñi, I. (2009). Effect of grape antioxidant dietary fiber on the lipid oxidation of raw and cooked chicken hamburgers. *LWT - Food Science and Technology*, 42, 971-976. doi:10.1016/j.lwt.2008.12.006
- Sáyago-Ayerdi, S. G.**, y Goñi, I. (2010). *Hibiscus sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 60(1), 79-84.
- Schols, H. A.**, Mutter, M., Voragen, A. J., Niessen, W. M. A., y van der Hoeven, R. A. M. (1994). The use of combined high-performance anion-exchange chromatography-thermospray mass spectrometry in the structural analysis of pectic oligosaccharides. *Carbohydrate Research*, 261, 335-342.
- Schols, H. A.**, Bakx, E. J., Schipper, D., y Voragen, A. G. J. (1995). A xylogalacturonan subunit present in the modified hairy regions of apple pectin. *Carbohydrate Research*, 279, 265-279. doi:10.1016/0008-6215(95)00287-1
- Schulze, M. B.**, Liu, S., Rimm, E. B., Manson, J. E., Willett, W. C., y Hu, F. B. (2004). Glycemic index, glycemic load, and dietary fiber intake and incidence of type 2 diabetes in younger and middle-aged women. *American Journal of Clinical Nutrition*, 80(2), 348-356.
- Seymour, G. B.**, Colquhoun, I. J., Dupont, M. S., Parsley, K. R., y Selvendran, R. R. (1990). Composition and structural features of cell wall polysaccharides from tomato fruits. *Phytochemistry*, 29(3), 725-731. doi:10.1016/0031-9422(90)80008-5
- Sharma, A.**, Yadav, B. S., y Ritika (2008). Resistant starch: Physiological roles and food applications. *Food Reviews International*, 24, 193-234. doi:10.1080/87559120801926237
- Sievenpiper, J. L.**, Kendall, C. W., Esfahani, A., Wong, J. M., Carleton, A. J., Jiang, H. Y.,... y Jenkins, D. J. (2009). Effect of non-oil-seed pulses on glycaemic control: a systematic review and meta-analysis of randomised controlled experimental trials in people with and without diabetes. *Diabetologia*, 52(8), 1479-1495. doi: 10.1007/s00125-009-1395-7
- Sila, D. N.**, Smout, C., Satara, Y., Truong, V., Van Loey, A., y Hendrickx, M. (2007). Combined thermal and high pressure effect on carrot pectinmethylesterase stability and catalytic activity. *Journal of Food Engineering*, 78, 755-764. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.11.016
- Sila, D. N.**, Duvetter, T., De Roeck, A., Verlent, I., Smout, C., Moates, G. K.,... y Van Loey, A. (2008). Texture changes of processed fruits and vegetables: potential use of high-pressure processing. *Trends in Food Science and Technology*, 19(6), 309-319. doi:10.1016/j.tifs.2007.12.007
- Sila, D. N.**, Van Buggenhout, S., Duvetter, T., Fraeye, I., De Roeck, A., Van Loey, A., y Hendrickx, M. (2009). Pectins in processed fruit and vegetables: Part II - Structure-function relationships. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 8, 86-104.
- Smith, B. G.**, y Harris, P. J. (2001). Ferulic acid is esterified to glucuronoarabinoxylans in pineapple cell walls. *Phytochemistry*, 56, 513-519.

- Soukoulis, C.**, Lebesi, D., y Tzia, C. (2009). Enrichment of ice cream with dietary fibre: Effects on rheological properties, ice crystallisation and glass transition phenomena. *Food Chemistry*, 115, 665-671. doi:10.1016/j.foodchem.2008.12.070
- Spiller, G. A.** (2001). CRC Handbook of dietary fiber in human nutrition. CRC Press.
- Stoforos, N. G.**, Crelier, S., Robert, M. -C., y Taoukis, P. S. (2002). Kinetics of tomato pectin methylesterase inactivation by temperature and high pressure. *Food Engineering and Physical Properties*, 67(3), 1026-1031.
- Stolle-Smits, T.**, Beekhuizen, J. G., Kok, M. T. C., Pijnenburg, M., Recourt, K., Derksen, J., y Voragen, A. G. (1999). Changes in cell wall polysaccharides of green bean pods during development. *Journal of Plant Physiology*, 121(2), 363-372.
- Taira, S.**, Ono, M., y Matsumoto, N. (1997). Reduction of persimmon astringency by complex formation between pectin and tannins. *Postharvest Biology and Technology*, 12(3) 265-271. doi:10.1016/S0925-5214(97)00064-1
- Taiz, L.**, y Zeiger, E. (2002). Secondary metabolites and plant defense. En L. Taiz, y E. Zeiger (Eds.), *Plant Physiology* (pp. 283-308). Sunderland MA, USA: Associates Inc. Publishers.
- Taiz, L.**, y Zeiger, E. (2006). *Fisiología vegetal*. Castelló de la Plana, España: Publicaciones de la Universitat Jaume I.
- Tanaka, T.**, Takahashi, R., Kouno, I., y Nonaka, G. -I. (1994). Chemical evidence for the de-astringency (insolubilization of tannins) of persimmon fruit. *Journal of the Chemical Society, Perkin Transactions 1*, 3013-3022. doi:10.1039/P19940003013
- Tanaka, T.**, Matsuo, Y., y Kouno, I. (2010). Chemistry of secondary polyphenols produced during processing of tea and selected foods. *International Journal of Molecular Sciences*, 11, 14-40. doi:10.3390/ijms11010014
- Thebaudin, J. Y.**, Lefebvre, A. C., Harrington, M., y Bourgeois, C. M. (1997). Dietary fibres: Nutritional and technological interest. *Trends in Food Science and Technology*, 8(2), 41-48. doi:10.1016/S0924-2244(97)01007-8
- Thibault, J. -F.**, Renard, C. M. G. C., Axelos, M. A. V., Roger, P., y Crépeau, M. -J. (1993). Studies of the length of homogalacturonic regions in pectins by acid hydrolysis. *Carbohydrate Research*, 238, 271-286. doi:10.1016/0008-6215(93)87019-O
- Thibault, J. -F.**, y Ralet, M. -C. (2003). Physico-chemical properties of pectins in the cell walls and after extraction. En F. Voragen, H. Schols, y R. Visser, R. (Eds.), *Advances in Pectin and Pectinase Research* (pp. 91-105). Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic.
- Topping, D. L.**, y Clifton, P. M. (2001). Short-chain fatty acids and human colonic function: roles of resistant starch and nonstarch polysaccharides. *Physiological Reviews*, 81(3), 1031-1064.

- Torres, J. A.,** Sanz, P. D., Otero, L., Pérez Lamela, C., y Saldaña, M. D. A. (2009). Engineering principles to improve food quality and safety by high pressure processing. En E. Ortega-Rivas (Ed.), *Processing effects on safety and quality of foods* (pp. 379-414). Boca Raton FL: CRC Taylor & Francis, Inc.
- Torres, G.** (2013). Respuesta de la pared celular y carbohidratos no estructurales de la cebolla al tratamiento por altas presiones hidrostáticas (Tesis doctoral). Universidad Autónoma de Madrid, España.
- Turquois, T.,** Rinaudo, M., Taravel, F. R., y Heyraud, A. (1999). Extraction of highly gelling pectic substances from sugar beet pulp and potato pulp: influence of extrinsic parameters on their gelling properties. *Food Hydrocolloids*, 13, 255-262.
- Uchida, S.,** Ohta, H., Niwa, M., Mori, A., Nonaka, G., Nishioka, I., y Ozaki, M. (1990). Prolongation of life span of stroke-prone spontaneously hypertensive rats (SHRSP) ingesting persimmon tannin. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 38, 1049-1052.
- ugr** (2015). Métodos jerárquicos de análisis cluster.
<http://www.ugr.es/~gallardo/pdf/cluster-3.pdf> (acceso el 7/09/2015)
- Uysal, H.,** Bilgicli, N., Elgun, A., Ibanoglu, S., Herken, E. N., y Demir, M. K. (2007). Effect of dietary fibre and xylanase enzyme addition on the selected properties of wire-cut cookies. *Journal of Food Engineering*, 78(3), 1074-1078. doi:10.1016/j.jfoodeng.2005.12.019
- Vaclavik, V. A.,** y Christian, E. W. (2008). Pectins and Gums. En: V. A. Vaclavik, y E. W. Christian (Eds.), *Essentials of Food Science* (pp. 69-80). New York, USA: Springer. doi:10.1007/978-0-387-69940-0_5
- Van linden, V.,** Sila, D. N., Duvetter, T., De Baerdemaeker, J., y Hendrickx, M. (2008). Effect of mechanical impact-bruising on polygalacturonase and pectinmethylesterase activity and pectic cell wall components in tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 47(1), 98-106. doi:10.1016/j.postharvbio.2007.06.006
- Vázquez-Gutiérrez, J. L.,** Quiles, A., Hernando, I., y Pérez-Munuera, I. (2011). Changes in the microstructure and location of some bioactive compounds in persimmons treated by high hydrostatic pressure. *Postharvest Biology and Technology*, 61(2-3), 137-144. doi:10.1016/j.postharvbio.2011.03.008
- Vázquez-Gutiérrez, J. L.** (2012a). Efecto de las Altas Presiones Hidrostáticas sobre la estructura y estabilidad de tejidos vegetales. Relación con la extractabilidad de compuestos bioactivos (Tesis doctoral). Universitat Politècnica de València, España. Disponible en <http://hdl.handle.net/10251/16963>
- Vázquez-Gutiérrez, J. L.,** Hernández-Carrión, M., Quiles, A., Hernando, I., y Pérez-Munuera, I. (2012b). Impact of high hydrostatic pressures on the structure, diffusion of soluble compounds and textural properties of persimmon 'Rojo Brillante'. *Food Research International*, 47(2), 218-222. doi:10.1016/j.foodres.2011.06.024

Vázquez-Gutiérrez, J. L., Hernando, I., y Quiles, A. (2013). Changes in tannin solubility and microstructure of high hydrostatic pressure treated persimmon cubes during storage at 4 °C. *European Food Research and Technology*, 237, 9-17.

Veberic, R., Jurhar, J., Mikulic-Petkovsek, M., Stampar, F., y Schmitzer, V. (2010). Comparative study of primary and secondary metabolites in 11 cultivars of persimmon fruit (*Diospyros kaki* L.). *Food Chemistry*, 119(2), 477-483. doi:10.1016/j.foodchem.2009.06.044

Vega, M. A. (1994). Sistema immune intestinal porcino. *Cínica veterinaria*, 6, 145-172.

Vergara-Valencia, N., Granados-Pérez, E., Agama-Acevedo, E., Tovar, J., Ruales, J., y Bello-Pérez, L. A. (2007). Fibre concentrate from mango fruit: characterization, associated antioxidant capacity and application as a bakery product ingredient. *LWT - Food Science and Technology*, 40(4), 722-729. doi:10.1016/j.lwt.2006.02.028

Verlent, I., Van Loey, A., Smout, C., Duvetter, T., Ly-Nguyen, B., y Hendrickx, M. E. (2004). Changes in purified tomato pectinmethylesterase activity during thermal and high pressure treatment. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 84, 1839-1847.

Verlent, I., Smout, C., Duvetter, T., Hendrickx, M. E., y Van Loey, A. (2005). Effect of temperature and pressure on the activity of purified tomato polygalacturonase in the presence of pectins with different patterns of methyl esterification. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 6(3), 293-303. doi: 10.1016/j.ifset.2005.02.003

Verlent, I., Hendrickx, M., Verbeyst, L., y Van Loey, A. (2007). Effect of temperature and pressure on the combined action of purified tomato pectinmethylesterase and polygalacturonase in presence of pectin. *Enzyme and Microbial Technology*, 40(5), 1141-1146. doi:10.1016/j.enzmictec.2006.08.021

Vervoort, L., Van der Plancken, I., Grauwet, T., Timmermans, R. A. H., Mastwijk, H. C., Matser, A. M., Hendrickx, M. E., y Van Loey, A. (2011). Comparing equivalent thermal, high pressure and pulsed electric field processes for mild pasteurization of orange juice: Part II: Impact on specific chemical and biochemical quality parameters. *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 12(4), 466-477. doi:10.1016/j.ifset.2011.06.003

Vincken, J. -P., Schols, H. A., Oomen, R. J. F. J., McCann, M. C., Ulvskov, P., Voragen, A. G. J., y Visser, R. G. F. (2003). If homogalacturonan here a side chain of rhamnogalacturonan I. Implications for cell wall architecture. *Plant Physiology*, 132, 1781-1789.

Visser, J., y Voragen, A. G. J. (1996). *Progress in Biotechnology 14: Pectins and Pectinases*. Amsterdam: Elsevier.

Viuda-Martos, M., López-Marcos, M. C., Fernández-López, J., Sendra, E., López-Vargas, J. H., y Pérez-Álvarez, J. A. (2010). Role of Fiber in Cardiovascular Diseases: A Review. *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety*, 9, 240-258. doi: 10.1111/j.1541-4337.2009.00102.x

Vorwerk, S., Somerville, S., y Somerville, C. (2004). The role of plant cell wall polysaccharide composition in disease resistance. *Trends in Plant Science*, 9, 203-209.

Walton, T. J. (1990). Waxes, cutin and suberin. En J. L. Harwood, y J. R. Boyer (Eds.), *Methods in Plant Biochemistry, Lipids, Membranes and Aspects of Photobiology*, Vol 4 (pp. 105-158). London: Academic Press.

Wang, J., Rosell, M. C., y Barber, C. B. (2002). Effect of the addition of different fibers on wheat dough performance and bread quality. *Food Chemistry*, 79, 221-226. doi:10.1016/S0308-8146(02)00135-8

Wang, L., Xu, H., Yuan, F., Pan, Q., Fan, R., y Gao, Y. (2015). Physicochemical characterization of five types of citrus dietary fibers. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 4(2), 250-258. doi:10.1016/j.bcab.2015.02.003

Watrelot, A. A., Le Bourvellec, C., Imberty, A., y Renard, C. M. G. C. (2013). Interactions between pectic compounds and procyanidins are influenced by methylation degree and chain length. *Biomacromolecules*, 14, 709-718.

Watrelot, A. A., Le Bourvellec, C., Imberty, A., y Renard, C. M. G. C. (2014). Neutral sugar side chains of pectins limit interactions with procyanidins. *Carbohydrate Polymers*, 99, 527-536.

Wei, J., Ma, F., Shi, S., Qi, X., Zhu, X., y Yuan, J. (2010). Changes and postharvest regulation of activity and gene expression of enzymes related to cell wall degradation in ripening apple fruit. *Postharvest Biology and Technology*, 56(2), 147-154. doi:10.1016/j.postharvbio.2009.12.003

Wennberg, M., y Nyman, M. (2004). On the possibility of using high pressure treatment to modify physico-chemical properties of dietary fibre in white cabbage (*Brassica oleracea* var. *capitata*). *Innovative Food Science and Emerging Technologies*, 5(2), 171-177. doi:10.1016/j.ifset.2004.02.002

Westenbrink, S., Brunt, K., y van der Kamp, J. W. (2013). Dietary fibre: Challenges in production and use of food composition data. *Food Chemistry*, 140(3), 562-567. doi:10.1016/j.foodchem.2012.09.029

Whitcombe, A. J., O'Neill, M. A., Steffan, W., Albersheim, P., y Darvill, A. G. (1995). Structural characterization of the pectic polysaccharide, rhamnogalacturonan-II. *Carbohydrate Research*, 271, 15-29.

WHO/FAO, (2003). Diet, Nutrition and the Prevention of Chronic Diseases. WHO Technical Report Series 916.

Willats, W. G. T., McCartney, L., Mackie, W., y Knox, J. P. (2001). Pectin: cell biology and prospects for functional analysis. *Plant Molecular Biology*, 47, 9-27.

Willats, W. G., Orfila, C., Limberg, G., Buchholt, H. C., van Alebeek, G. -J. W. M., Voragen, A. G. J.,... y Knox, J. P. (2001). Modulation of the degree and pattern of methyl-esterification of pectic homogalacturonan in plant cell walls. Implications for pectin methyl-esterase action, matrix properties, and cell adhesion. *Journal of Biological Chemistry*, 276, 19404-19413.

Willats, W. G. T., Knox, J. P., y Mikkelsen, J. D. (2006). Pectin: new insights into an old polymer are starting to gel. *Trends in Food Science and Technology*, 17, 97-104.

Woolf, A. B., y Ben-Arie, R. (2011). 9 - Persimmon (*Diospyros kaki* L.), En E. Yahia (Ed.), *Postharvest Biology and Technology of Tropical and Subtropical Fruits* (pp. 166-193). Woodhead Publishing. doi:10.1533/9780857092618.166

Wu, Y. V. (1994). Determination of neutral sugars in corn distiller's dried grains, corn distillers' dried solubles and corn distillers' dried grains with solubles. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 42, 723-726.

Yaldagard, M., Mortazavi, S. A., y Tabatabaie, F. (2008). The principles of ultra high pressure technology and its application in food processing/preservation: A review of microbiological and quality aspects. *African Journal of Biotechnology*, 7(16), 2739-2767.

Yamada, M., Taira, S., Ohtsuki, M., Sato, A., Iwanami, H., Yakushiji, H.,... y Li, G. (2002). Varietal differences in the ease of astringency removal by carbon dioxide gas and ethanol vapor treatments among Oriental astringent persimmons of Japanese and Chinese origin. *Scientia Horticulturae*, 94(1-2), 63-72. doi:10.1016/S0304-4238(01)00367-3

Yeh, H. Y., Su, N. W., y Lee, M. H. (2005). Chemical compositions and physicochemical properties of the fiber-rich materials prepared from shoyu mash residue. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53, 4361-4366.

Yonemori, K., Yamada, M., y Sugiura, A. (2000). Persimmon genetics and breeding. *Plant Breeding Reviews*, 19, 191-225.

Yoo, S. -H., Fishman, M. L., Savary, B. J., y Hotchkiss, A. T. (2003). Monovalent salt-induced gelation of enzymatically deesterified pectin. *Journal of Agriculture and Food Chemistry*, 51, 7410-7417.

Yoon, K. S., y Lee, C. M. (1990). Cryoprotectant effects in surimi and surimi/mince-based extruded products. *Journal of Food Science*, 55, 1210-1216. doi: 10.1111/j.1365-2621.1990.tb03900.x

Zandleven, J., Beldman, G., Bosveld, M., Schols, H. A., y Voragen, A. G. J. (2006). Enzymatic degradation studies of xylogalacturonans from apple and potato, using xylogalacturonan hydrolase. *Carbohydrate Polymers*, 65(4), 495-503. doi:10.1016/j.carbpol.2006.02.015

Zapata, M. E., Hoet, A. M., y Simonini, D. (2013). Evaluación del consumo de fibra dietética en pacientes con diabetes tipo 2 que concurren a un centro asistencial de la ciudad de Rosario. *Revista Española de Nutrición Humana y Dietética*, 17(3), 95-101.

- Zaro, M. J.**, Keunchkarian, S., Chaves, A. R., Vicente, A. R., y Concellón, A. (2014). Changes in bioactive compounds and response to postharvest storage conditions in purple eggplants as affected by fruit developmental stage. *Postharvest Biology and Technology*, 96, 110-117. doi: 10.1016/j.postharvbio.2014.05.012
- Zhou, H. W.**, Ben-Arie, R., y Lurie, S. (2000). Pectin esterase, polygalacturonase and gel formation in peach pectin fractions. *Phytochemistry*, 55(3), 191-195. doi:10.1016/S0031-9422(00)00271-5
- Zou, B.**, Li, C. M., Chen, J. Y., Dong, X. Q., Zhang, Y., y Du, J. (2012). High molecular weight persimmon tannin is a potent hypolipidemic in high-cholesterol diet fed rats. *Food Research International*, 48(2), 970-977.
- Zykwinska, A. W.**, Ralet, M. -C. J., Garnier, C. D., y Thibault, J. -F. J. (2005). Evidence for in vitro binding of pectin side chains to cellulose. *Plant Physiology*, 139, 397-407.
- Zykwinska, A.**, Rondeau-Mouro, C., Garnier, C., Thibault, J. -F., y Ralet, M. -C. (2006). Alkaline extractability of pectic arabinan and galactan and their mobility in sugar beet and potato cell walls. *Carbohydrate Polymers*, 65, 510-520.
- Zykwinska, A.**, Thibault, J. -F., y Ralet, M. -C. (2007). Organization of pectic arabinan and galactan side chains in association with cellulose microfibrils in primary cell walls and related models envisaged. *Journal of Experimental Botany*, 58, 1795-1802.
- Zykwinska, A.**, Thibault, J. -F., y Ralet, M. -C. (2008). Competitive binding of pectin and xyloglucan with primary cell wall cellulose. *Carbohydrate Polymers*, 74, 957-961.

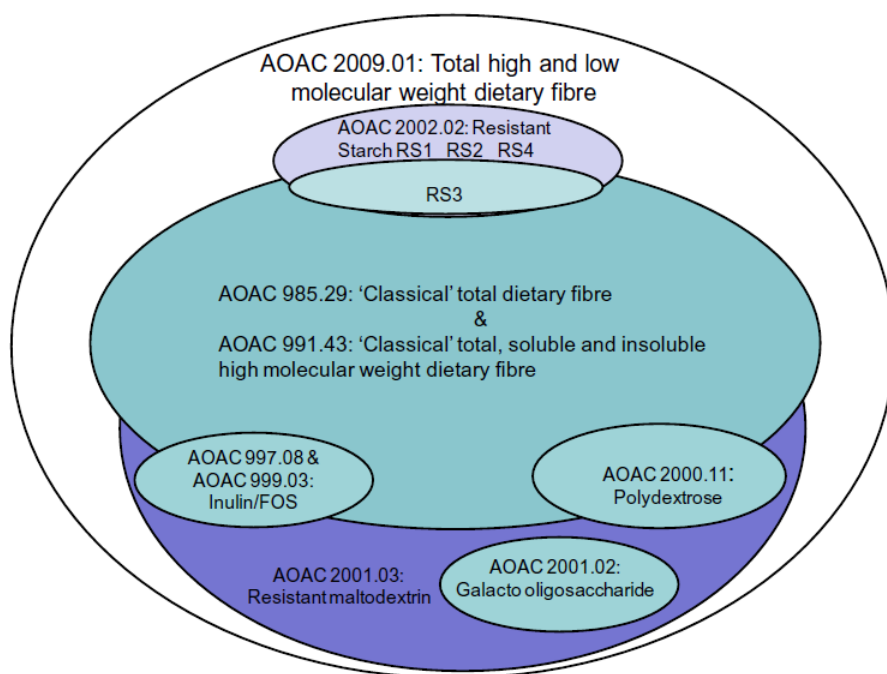


Figura A.1. Métodos analíticos para determinar distintas fracciones de la fibra alimentaria (Westenbrink y col., 2013).

Tabla A.1. Características de las columnas PD-10 utilizadas para purificar el extracto PG.

Matriz	Sephadex G-25 medio
Tamaño de partícula	85 a 260 μm
Dimensiones del relleno de la columna	1,45 x 5,0 cm (8,3 mL)
Volumen máximo de muestra	2,5 mL
Capacidad de eliminar sales	>90%
Límite de exclusión	M_r 5000
pH de trabajo	2-13
Temperatura de almacenamiento	Entre 4 y 30°C

ACTIVIDAD ENZIMÁTICA PME: Condiciones de trabajo en el pH-Stat

Tabla A.2. Caquis astringentes de maduración III (A, III).

setpH1 (ajuste del pH a 7,5)									
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (µL/min)	Stop* (µL/min)	pH final*	Tiempo máx. (s)	V total NaOH (mL)	V NaOH (µL) (entre tiempos de registro)		Wait* (s)
							mínimo	máximo	
A-C, III	2	20	10	7,50	56-69	0,4	8-14	14-26	40
A-200/1, III	4	10			118-298	0,3	2-10	8-14	
A-200/3, III	4	20			167-207	1,1	14-16	26	
A-200/6, III	4	10			136-145	0,4	12	14	
A- 400/1, III	4	20			180-184	1,1	16	26	
A-400/3, III	4	20			65-143	0,4	2-4	26	
A-400/6, III	4	10			112-165	0,4	2-8	14	

Wait: tiempo de espera entre el fin del ajuste del pH (setpH1) y el comienzo de la valoración (setpH3).

setpH3 (valoración ácido-base)				
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (µL/min)	Flujo máximo* (mL/min)	Stop* (min)
A-C, III	15	2	0,06	30
A-200/1, III		2	0,06	
A-200/3, III		5-6	0,10	
A-200/6, III		2-15	0,10	
A- 400/1, III		3-15	0,06	
A-400/3, III		2	0,06	
A-400/6, III		2	0,06	

*Condiciones de trabajo que se establecen al fijar el método.

Tabla A.3. Caquis no astringentes de maduración III (NA, III).

setpH1 (ajuste del pH a 7,5)									
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Stop* (μL/min)	pH final*	Tiempo máx. (s)	V total NaOH (mL)	V NaOH (μL) (entre tiempos de registro)		Wait* (s)
							mínimo	máximo	
NA-C, III	4	20	10	7,50	115-117	0,6	6	26	40
NA-200/1, III					103-239	0,6	4-20	18-26	
NA-200/3, III					84-120	0,6	2-22	26	
NA-200/6, III					86-108	0,6	12-20	26	
NA-400/1, III					86-117	0,6	2-8	26	
NA-400/3, III					102-107	1,0	18	26	
NA-400/6, III					113-434	1,5	2-4	26-28	

Wait: tiempo de espera entre el fin del ajuste del pH (setpH1) y el comienzo de la valoración (setpH3).

setpH3 (valoración ácido-base)				
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Flujo máximo* (mL/min)	Stop* (min)
NA-C, III	15	3-15	0,06	30
NA-200/1, III		4	0,10	
NA-200/3, III		4	0,10	
NA-200/6, III		4	0,10	
NA-400/1, III		4	0,10	
NA-400/3, III		2-4	0,10	
NA-400/6, III		4	0,10	

*Condiciones de trabajo que se establecen al fijar el método.

Tabla A.4. Caquis astringentes de maduración V (A, V).

setpH1 (ajuste del pH a 7,5)									
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Stop* (μL/min)	pH final*	Tiempo máx. (s)	V total NaOH (mL)	V NaOH (μL) (entre tiempos de registro)		Wait* (s)
							mínimo	máximo	
A-C, V	4	20	10	7,50	173-296	1,4	6-22	26-28	40
A-200/1, V		20			147-201	0,8	6-10	14-26	
A-200/3, V		10			165-178	0,5	2-6	14	
A-200/6, V		10			105-231	0,4	2-4	14	
A- 400/1, V		10			145-187	0,5	2-4	14	
A-400/3, V		20			87-228	0,5	2-18	14-26	
A-400/6, V		20			98-105	0,6	2	26	

Wait: tiempo de espera entre el fin del ajuste del pH (setpH1) y el comienzo de la valoración (setpH3).

setpH3 (valoración ácido-base)				
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Flujo máximo* (mL/min)	Stop* (min)
A-C, V	15	2	0,06	30
A-200/1, V		2	0,10	
A-200/3, V		2	0,06	
A-200/6, V		2	0,10	
A- 400/1, V		4	0,06	
A-400/3, V		3	0,06	
A-400/6, V		2-4	0,10	

*Condiciones de trabajo que se establecen al fijar el método.

Tabla A.5. Caquis no astringentes de maduración V (NA, V).

setpH1 (ajuste del pH a 7,5)									
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Stop* (μL/min)	pH final*	Tiempo máx. (s)	V total NaOH (mL)	V NaOH (μL) (entre tiempos de registro)		Wait* (s)
							mínimo	máximo	
NA-C, V	4	20	10	7,50	81-104	0,5	4-22	26	40
NA-200/1, V		30			113-168	0,7	2	26-38	
NA-200/3, V		20			108-133	0,7	2-4	26	
NA-200/6, V		40			268-398	1,6	2-4	26-28	
NA-400/1, V		40			82-212	0,8	2-28	26-50	
NA-400/3, V		20			103-131	0,7	10-14	26	
NA-400/6, V		20			122-285	1,5	2-8	26-28	

Wait: tiempo de espera entre el fin del ajuste del pH (setpH1) y el comienzo de la valoración (setpH3).

setpH3 (valoración ácido-base)				
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Flujo máximo* (mL/min)	Stop* (min)
NA-C, V	15	3	0,06	30
NA-200/1, V		4	0,10	
NA-200/3, V		4	0,10	
NA-200/6, V		5	0,10	
NA-400/1, V		4	0,10	
NA-400/3, V		4	0,10	
NA-400/6, V		4-8	0,20	

*Condiciones de trabajo que se establecen al fijar el método.

Tabla A.6. Caquis almacenados a 4°C.

setpH1 (ajuste del pH a 7,5)									
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Stop* (μL/min)	pH final*	Tiempo máx. (s)	V total NaOH (mL)	V NaOH (μL) (entre tiempos de registro)		Wait* (s)
							mínimo	máximo	
A-C, D0	4	10	10	7,50	265-359	1,0	2	14	40
A-T1, D0		10			148-156	0,4	10	14	
A-T2, D0		20			224-235	1,3	16	26	
A-C, D7		10			362-377	1,1	2	14	
A-T1, D7		20			258-269	1,6	4	26	
A-T2, D7		10			137-149	0,8	2	26	
A-C, D14		10			70-91	0,2	8	14	
A-T1, D14		10			68-108	0,3	2-8	14	
A-T2, D14		20			214	1,3	10	26	
A-C, D21		10			297-303	0,9	2-6	14	
A-T1, D21		20			338-341	2,0	10	28	
A-T2, D21		20			130-136	0,7	12	26	
A-C, D28		10			87-91	0,3	6-18	20-26	
A-T1, D28		20			124-341	1,4	6-22	26-28	
A-T2, D28		10			67-138	0,7	2-44	32-64	

*Condiciones de trabajo que se establecen al fijar el método.

Wait: tiempo de espera entre el fin del ajuste del pH (setpH1) y el comienzo de la valoración (setpH3).

Tabla A.6. (continuación) Caquis almacenados a 4°C.

setpH3 (valoración ácido-base)				
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Flujo máximo* (mL/min)	Stop* (min)
A-C, D0	15	2	0,06	30
A-T1, D0		3	0,06	
A-T2, D0		4	0,10	
A-C, D7		2	0,06	
A-T1, D7		3	0,06	
A-T2, D7		2	0,10	
A-C, D14		2	0,06	
A-T1, D14		2	0,06	
A-T2, D14		4	0,10	
A-C, D21		2	0,06	
A-T1, D21		4	0,06	
A-T2, D21		4	0,06	
A-C, D28		2	0,10	
A-T1, D28		4	0,10	
A-T2, D28		2	0,10	

*Condiciones de trabajo que se establecen al fijar el método.

Tabla A.7. Blancos.

setpH1 (ajuste del pH a 7,5)									
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Stop* (μL/min)	pH final*	Tiempo máx. (s)	V total NaOH (mL)	V NaOH (μL) (entre tiempos de registro)		Wait* (s)
							mínimo	máximo	
Blanco de muestra	4	20	10	7,50	82-88	0,3	6	18	40
Blanco de sustrato					70-80	0,4	2-8	26	

Wait: tiempo de espera entre el fin del ajuste del pH (setpH1) y el comienzo de la valoración (setpH3).

setpH3 (valoración ácido-base)				
Muestra	Tiempo registro datos* (s)	Flujo mínimo* (μL/min)	Flujo máximo* (mL/min)	Stop* (min)
Blanco de muestra	15	2	0,10	30
Blanco de sustrato				

*Condiciones de trabajo que se establecen al fijar el método.

Tabla A.8. Fibra alimentaria en caquis sin tratamiento de APH (controles) (mg/g mf).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
A-C, III	29,7 ± 1,2 ^a _a	4,4 ± 0,1 ^a _a	25,3 ± 1,1 ^b _a	10,9 ± 0,4 ^a _a	2,2 ± 0,2 ^a _b	8,7 ± 0,2 ^a _a	34,0 ± 1,1 ^a _a	1:2,9
NA-C, III	32,8 ± 0,9 ^a _a	3,8 ± 0,2 ^b _a	29,0 ± 0,8 ^a _a	10,6 ± 0,5 ^a _a	2,6 ± 0,1 ^a _a	7,9 ± 0,4 ^a _a	37,0 ± 0,8 ^a _a	1:3,7
A-C, V	29,8 ± 0,5 ^a _a	4,5 ± 0,3 ^a _a	25,4 ± 0,3 ^a _a	11,7 ± 0,1 ^a _a	2,7 ± 0,0 ^b _a	8,9 ± 0,1 ^a _a	34,3 ± 0,3 ^a _a	1:2,9
NA-C, V	31,0 ± 1,4 ^a _a	4,4 ± 0,3 ^a _a	26,6 ± 1,2 ^a _a	9,1 ± 0,2 ^A _b	2,9 ± 0,0 ^a _a	6,2 ± 0,2 ^b _b	32,8 ± 1,0 ^a _b	1:4,3

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto eliminación de la astringencia: diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V); Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V, para muestras con igual astringencia (A ó NA); Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.9. Fibra alimentaria en caquis astringentes de maduración III (A, III) (mg/g mf).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
A-C	29,7 ± 1,2D	4,4 ± 0,1A	25,3 ± 1,1D	10,9 ± 0,4A	2,2 ± 0,2D	8,7 ± 0,2A	34,0 ± 1,1A	1:2,9
A-200/1	34,9 ± 0,6AB ^a _a	4,9 ± 0,2A ^a _a	30,0 ± 0,4AB ^b _a	9,0 ± 0,2BC ^a _b	2,5 ± 0,1B ^a _a	6,4 ± 0,1C ^a _b	36,4 ± 0,5A ^b _a	1:4,7
A-200/3	31,6 ± 0,2BCD ^a _a	4,0 ± 0,0A ^b _a	27,6 ± 0,2BCD ^b _a	10,6 ± 0,4A ^a _b	2,9 ± 0,1A ^a _a	7,7 ± 0,3B ^a _b	35,3 ± 0,3A ^a _a	1:3,6
A-200/6	33,5 ± 1,1ABC ^a _a	4,5 ± 0,3A ^b _a	29,0 ± 0,9ABC ^a _a	8,4 ± 0,2C ^a _b	2,4 ± 0,1BCD ^b _a	6,0 ± 0,1CD ^a _b	34,9 ± 1,0A ^a _a	1:4,8
A-400/1	34,1 ± 1,9AB ^a _a	4,9 ± 0,3A ^a _a	29,1 ± 1,7ABC ^a _a	8,1 ± 0,4C ^a _a	2,6 ± 0,1B ^a _a	5,6 ± 0,4D ^a _a	34,7 ± 1,8A ^a _a	1:5,2
A-400/3	35,8 ± 1,2A ^b _a	4,7 ± 0,2A ^b _a	31,1 ± 0,9A ^a _a	9,5 ± 0,2B ^a _a	2,2 ± 0,1CD ^a _a	7,3 ± 0,2B ^a _a	38,4 ± 0,9A ^a _a	1:4,3
A-400/6	30,2 ± 0,6CD ^b _a	3,4 ± 0,0B ^b _b	26,8 ± 0,6CD ^b _a	10,4 ± 0,1A ^a _b	2,5 ± 0,0BC ^a _b	7,9 ± 0,1B ^a _b	34,7 ± 0,7A ^a _a	1:3,4

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.10), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.11), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.10. Fibra alimentaria en caquis no astringentes de maduración III (NA, III) (mg/g mf).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
NA-C	32,8 ± 0,9B	3,8 ± 0,2B	29,0 ± 0,8A	10,6 ± 0,5A	2,6 ± 0,1B	7,9 ± 0,4A	37,0 ± 0,8A	1:3,7
NA-200/1	36,8 ± 1,1AB ^a _a	3,8 ± 0,3B ^a _b	33,0 ± 0,8A ^a _a	9,2 ± 0,6B ^a _a	2,1 ± 0,2C ^a _a	7,1 ± 0,5AB ^a _a	40,1 ± 0,6A ^a _a	1:4,6
NA-200/3	40,1 ± 2,4AB ^a _a	7,5 ± 0,5A ^a _a	32,6 ± 1,9A ^a _a	6,8 ± 0,4D ^b _b	2,6 ± 0,1B ^a _a	4,2 ± 0,3E ^b _b	36,9 ± 1,9A ^a _a	1:7,8
NA-200/6	37,1 ± 1,3AB ^a _a	7,4 ± 0,2A ^a _a	29,7 ± 1,1A ^a _a	8,8 ± 0,1BC ^a _a	3,2 ± 0,0A ^a _a	5,6 ± 0,2CD ^a _a	35,2 ± 1,2A ^a _a	1:5,3
NA-400/1	34,7 ± 0,7AB ^a _a	4,3 ± 0,2B ^a _a	30,3 ± 0,5A ^a _a	7,7 ± 0,4CD ^a _a	1,6 ± 0,0D ^b _b	6,1 ± 0,4BC ^a _a	36,4 ± 0,9A ^a _a	1:5,0
NA-400/3	41,2 ± 1,2A ^a _a	7,5 ± 0,5A ^a _a	33,7 ± 1,2A ^a _a	7,9 ± 0,4CD ^b _a	2,3 ± 0,1BC ^a _b	5,6 ± 0,4CD ^b _a	39,3 ± 1,6A ^a _a	1:6,0
NA-400/6	39,7 ± 1,3AB ^a _a	7,5 ± 0,4A ^a _a	32,2 ± 1,0A ^a _a	7,4 ± 0,1D ^b _a	2,5 ± 0,1BC ^a _a	4,9 ± 0,1DE ^b _a	37,2 ± 1,1A ^a _a	1:6,6

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla A.9) y NA, para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.12), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.11. Fibra alimentaria en caquis astringentes de maduración V (A, V) (mg/g mf).

	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE				
Muestra	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS	FT	FS:FI
A-C	29,8 ± 0,5A	4,5 ± 0,3A	25,4 ± 0,3A	11,7 ± 0,1A	2,7 ± 0,0B	8,9 ± 0,1ABC	34,3 ± 0,3B	1:2,9
A-200/1	30,9 ± 1,8A ^b _a	4,7 ± 0,3A ^a _a	26,2 ± 1,5A ^b _a	11,0 ± 0,4AB ^a _a	2,4 ± 0,2BC ^a _a	8,5 ± 0,3BC ^a _a	34,7 ± 1,5AB ^a _a	1:3,1
A-200/3	29,8 ± 0,7A ^b _a	4,2 ± 0,2A ^b _a	25,6 ± 0,5A ^b _b	12,6 ± 0,2A ^a _a	2,5 ± 0,2BC ^a _a	10,0 ± 0,3A ^a _a	35,7 ± 0,7AB ^a _a	1:2,6
A-200/6	32,1 ± 1,7A ^a _a	4,1 ± 0,3A ^b _a	28,0 ± 1,6A ^a _a	12,2 ± 0,5A ^a _a	2,0 ± 0,2D ^b _a	10,2 ± 0,5A ^a _a	38,2 ± 1,2A ^a _a	1:2,7
A-400/1	30,0 ± 0,9A ^b _a	4,0 ± 0,3A ^a _b	26,0 ± 0,5A ^b _a	9,3 ± 0,5B ^a _a	2,6 ± 0,0BC ^a _a	6,7 ± 0,5D ^a _a	32,7 ± 0,8B ^b _a	1:3,9
A-400/3	28,8 ± 1,0A ^b _b	3,9 ± 0,3A ^b _a	24,9 ± 0,8A ^a _b	9,9 ± 0,2B ^a _a	2,2 ± 0,0CD ^b _a	7,7 ± 0,1CD ^a _a	32,6 ± 0,7B ^a _b	1:3,2
A-400/6	29,9 ± 1,2A ^b _a	4,1 ± 0,1A ^b _a	25,8 ± 1,1A ^b _a	13,2 ± 0,7A ^a _a	3,5 ± 0,1A ^a _a	9,7 ± 0,6AB ^a _a	35,4 ± 1,7AB ^a _a	1:2,7

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (A); ANOVA de un factor / Brown-Forsythe (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.12), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla A.9) y V, para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.12. Fibra alimentaria en caquis no astringentes de maduración V (NA, V) (mg/g mf).

Muestra	FRACCIÓN INSOLUBLE			FRACCIÓN SOLUBLE			FT	FS:FI
	RGI	Proteína	FI	RGS	Proteína	FS		
NA-C	31,0 ± 1,4C	4,4 ± 0,3B	26,6 ± 1,2C	9,1 ± 0,2AB	2,9 ± 0,0A	6,2 ± 0,2AB	32,8 ± 1,0A	1:4,3
NA-200/1	36,9 ± 0,3AB ^a	5,5 ± 0,1B ^a	31,5 ± 0,3A ^a	8,2 ± 0,4BCD ^b	2,7 ± 0,1A ^a	5,5 ± 0,3BC ^b	37,0 ± 0,6A ^b	1:5,7
NA-200/3	36,6 ± 1,3AB ^a	7,2 ± 0,3A ^a	29,4 ± 1,0ABC ^a	9,4 ± 0,5A ^b	2,8 ± 0,1A ^a	6,6 ± 0,4A ^b	36,0 ± 0,6A ^a	1:4,5
NA-200/6	36,1 ± 2,4AB ^a	7,7 ± 0,6A ^a	28,4 ± 1,8ABC ^a	8,3 ± 0,4ABC ^b	3,0 ± 0,1A ^b	5,4 ± 0,4BC ^b	33,8 ± 1,7A ^a	1:5,3
NA-400/1	35,4 ± 1,3ABC ^a	4,6 ± 0,3B ^a	30,8 ± 1,0AB ^a	7,6 ± 0,3CD ^b	2,8 ± 0,2A ^a	4,8 ± 0,1C ^b	35,6 ± 0,9A ^a	1:6,4
NA-400/3	34,3 ± 1,6BC ^a	6,8 ± 0,4A ^a	27,5 ± 1,2BC ^a	9,1 ± 0,3AB ^a	3,0 ± 0,0A ^a	6,1 ± 0,3AB ^b	33,7 ± 1,1A ^b	1:4,5
NA-400/6	39,2 ± 0,4A ^a	7,7 ± 0,1A ^a	31,5 ± 0,4A ^a	7,2 ± 0,3D ^b	2,5 ± 0,1A ^b	4,7 ± 0,3C ^b	36,2 ± 0,1A ^a	1:6,7

A: astringente. NA: no astringente. C: control.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (NA); ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla A.11) y NA, para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla A.10) y V, para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

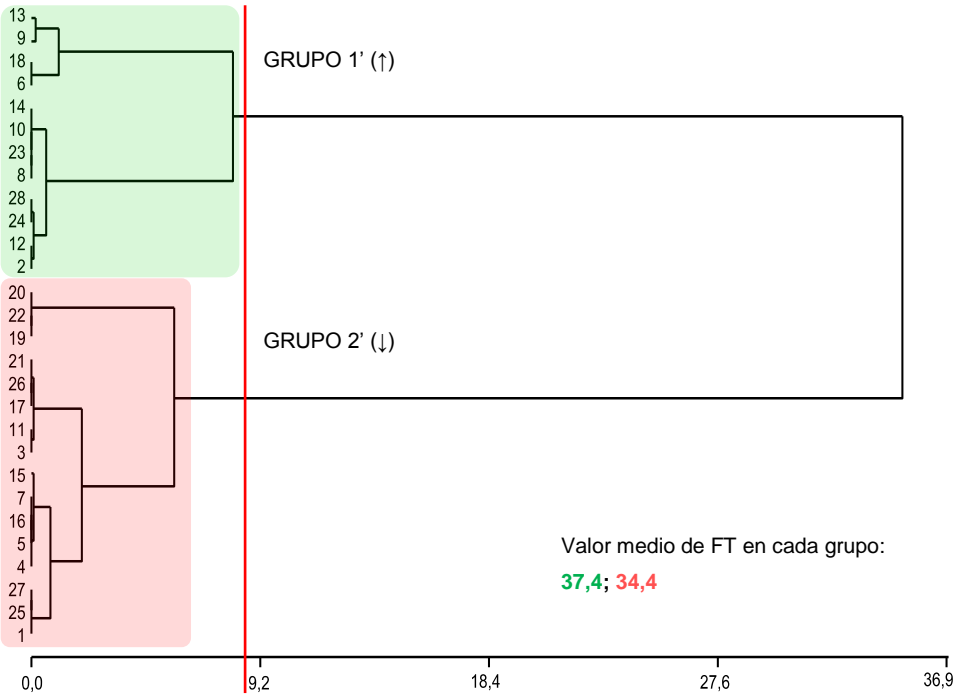


Figura A.2. Dendrograma para fibra total en materia fresca. Dos conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

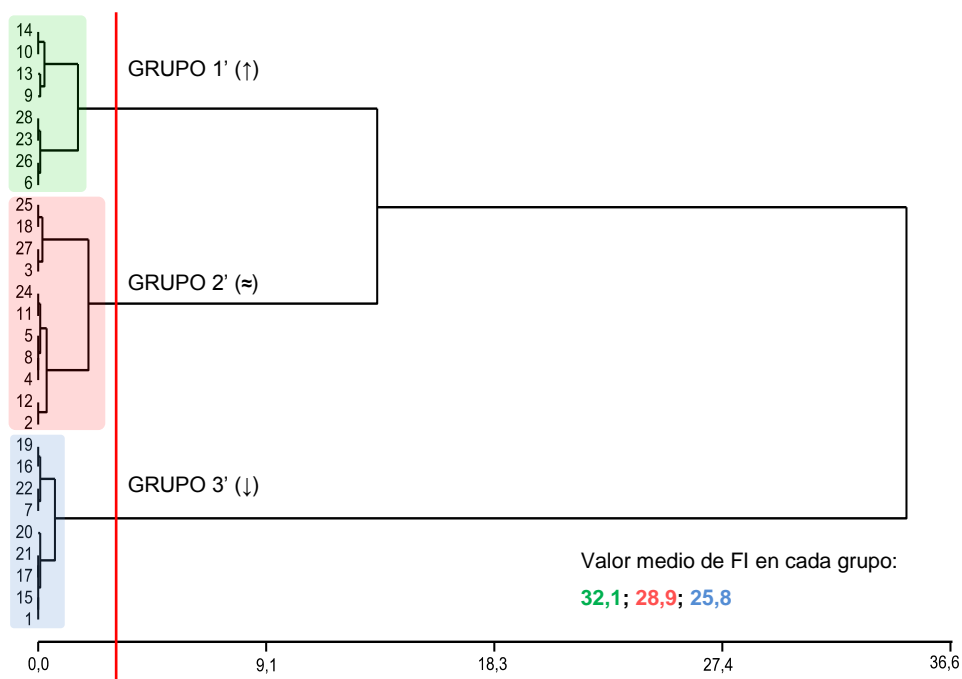


Figura A.3. Dendrograma para fibra insoluble en materia fresca. Tres conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado.

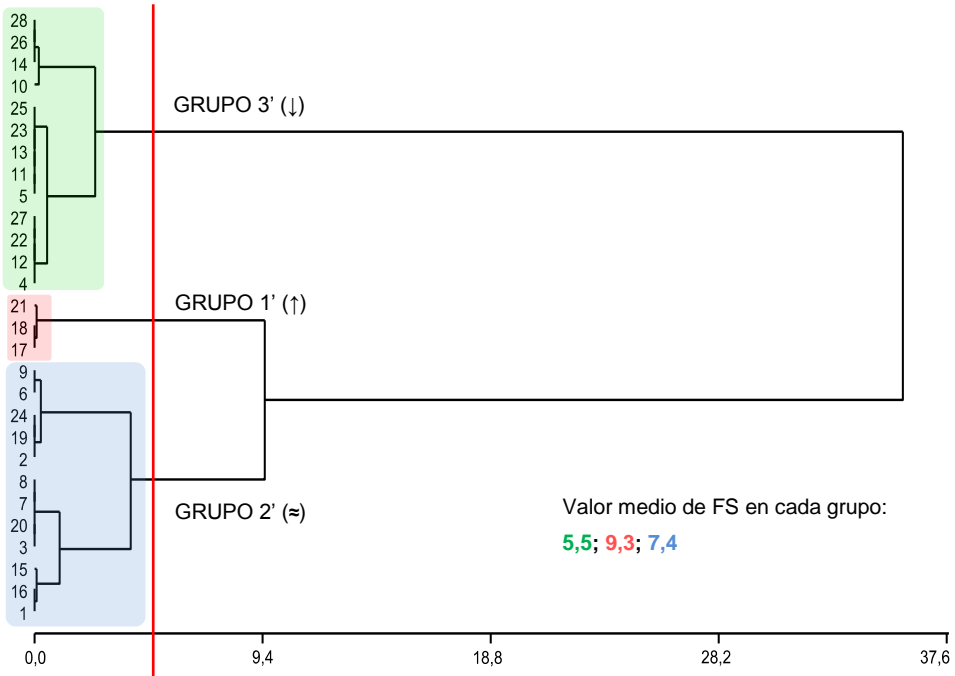
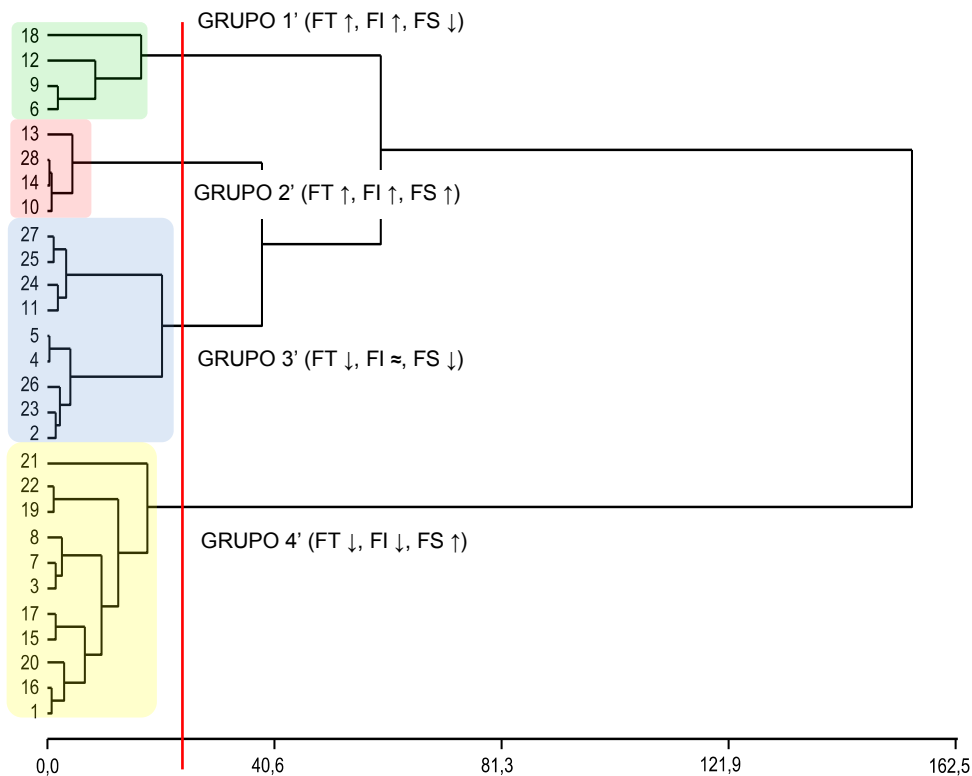


Figura A.4. Dendrograma para fibra soluble en materia fresca. Tres conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado. Según K-medias las muestras 1, 15 y 16 están en el grupo 1', y la muestra 2 está en el grupo 3'. El “Valor medio de FS en cada grupo” recoge estas modificaciones.



Valor medio de las variables en cada grupo							
Grupo	RGI	ProteínaRGI	FI	RGS	ProteínaRGS	FS	FT
1	40	8	33	7	2	5	37
2	35	4	31	10	2	7	38
3	35	6	30	8	3	6	35
4	30	4	26	11	3	8	35

Figura A.5. Dendrograma conjunto de fibra en materia fresca. Cuatro conglomerados. Muestras: astringentes de maduración III [1-7]; no astringentes de maduración III [8-14]; astringentes de maduración V [15-21]; no astringentes de maduración V [22-28]. Método: Ward. Distancia: Euclídea al cuadrado. Estandarización: puntuaciones Z. Según K-medias la muestra 8 está en el grupo 1', y las muestras 12 y 18 están en los grupos 3' y 4', respectivamente. La tabla “Valor medio de las variables en cada grupo” recoge estas modificaciones.

Tabla A.13. Contenido de RIA en caquis astringentes de maduración III.

Muestra	RIA	RIA
	(mg/g ms)	(mg/g mf)
A-C	245,9 ± 7,7D ^b _a	42,1 ± 1,3D ^b _a
A-200/1	296,0 ± 7,8C ^b _a	52,9 ± 1,4C ^b _a
A-200/3	361,7 ± 12,6AB ^a _a	66,6 ± 2,3A ^a _a
A-200/6	355,0 ± 16,9AB ^a _a	62,9 ± 3,0AB ^a _a
A-400/1	331,9 ± 11,5B ^a _a	58,6 ± 2,0B ^a _a
A-400/3	377,8 ± 9,9A ^a _a	66,8 ± 1,7A ^a _a
A-400/6	277,1 ± 5,9CD ^b _a	49,9 ± 1,1C ^b _a

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.14), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.15), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.14. Contenido de RIA en caquis no astringentes de maduración III.

Muestra	RIA	RIA
	(mg/g ms)	(mg/g mf)
NA-C	339,8 ± 10,1B ^a _a	58,8 ± 1,7B ^a _a
NA-200/1	328,8 ± 9,5B ^a _a	58,1 ± 1,7B ^a _a
NA-200/3	367,4 ± 15,0AB ^a _a	64,1 ± 2,6AB ^a _a
NA-200/6	304,7 ± 10,0C ^b _a	53,1 ± 1,7C ^b _a
NA-400/1	358,5 ± 8,6B ^a _a	59,7 ± 1,4B ^a _b
NA-400/3	348,2 ± 21,8B ^a _a	60,5 ± 3,8AB ^a _a
NA-400/6	400,5 ± 8,7A ^a _a	69,9 ± 1,5A ^a _a

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla A.13) y NA, para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.16), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.15. Contenido de RIA en caquis astringentes de maduración V.

Muestra	RIA	RIA
	(mg/g ms)	(mg/g mf)
A-C	222,5 ± 5,5D ^b _b	41,8 ± 1,0E ^b _a
A-200/1	285,0 ± 7,6A ^b _a	54,7 ± 1,5AB ^b _a
A-200/3	250,5 ± 7,9BC ^b _b	49,3 ± 1,6BCD ^b _b
A-200/6	236,4 ± 4,2C ^b _b	45,7 ± 0,8D ^b _b
A-400/1	292,2 ± 5,6A ^b _b	56,8 ± 1,1A ^b _a
A-400/3	270,4 ± 6,5AB ^a _b	52,6 ± 1,3ABC ^a _b
A-400/6	234,1 ± 6,3CD ^b _b	47,7 ± 1,3CD ^b _a

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla A.16) y NA, para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla A.13) y V, para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.16. Contenido de RIA en caquis no astringentes de maduración V.

Muestra	RIA	RIA
	(mg/g ms)	(mg/g mf)
NA-C	263,3 ± 5,3D ^a _b	48,5 ± 1,0D ^a _b
NA-200/1	326,8 ± 6,1B ^a _a	61,1 ± 1,1B ^a _a
NA-200/3	289,1 ± 5,8C ^a _b	55,4 ± 1,1C ^a _b
NA-200/6	279,8 ± 6,1CD ^a _a	54,7 ± 1,2C ^a _a
NA-400/1	385,1 ± 8,5A ^a _a	75,7 ± 1,7A ^a _a
NA-400/3	285,1 ± 4,6C ^a _a	54,8 ± 0,9C ^a _a
NA-400/6	295,9 ± 9,8C ^a _b	56,2 ± 1,9C ^a _b

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla A.15) y NA, para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla A.14) y V, para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

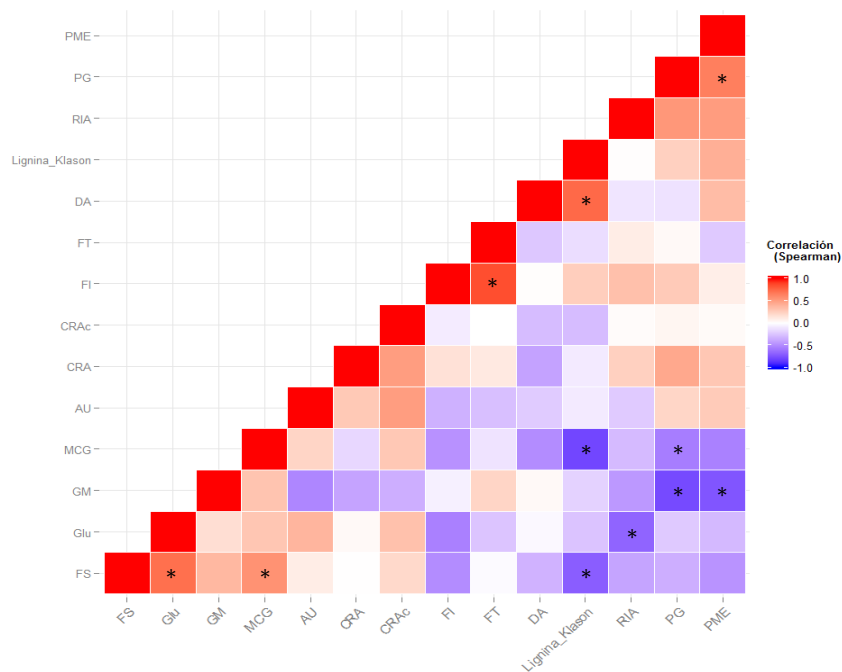


Figura A.6. Correlación de Spearman en caquis astringentes de maduración III. Relación lineal significativa para $p \leq 0,01$; asterisco (*).

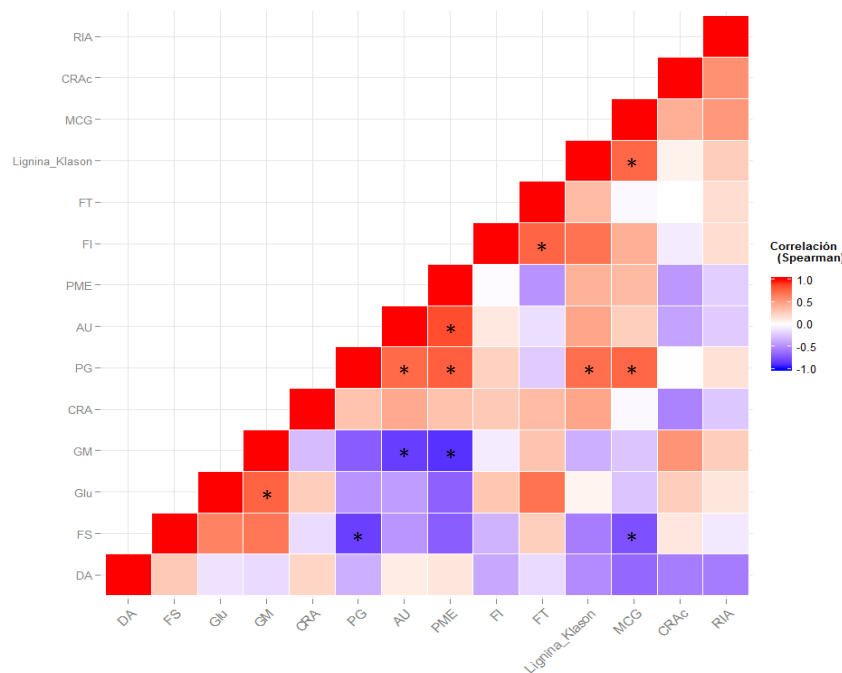


Figura A.7. Correlación de Spearman en caquis no astringentes de maduración III. Relación lineal significativa para $p \leq 0,01$; asterisco (*).

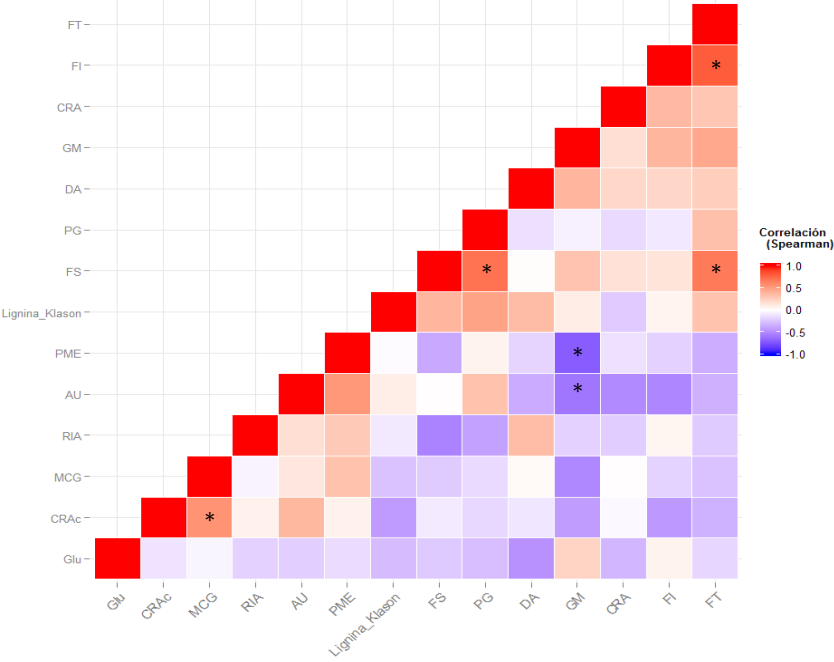


Figura A.8. Correlación de Spearman en caquis astringentes de maduración V. Relación lineal significativa para $p \leq 0,01$; asterisco (*).

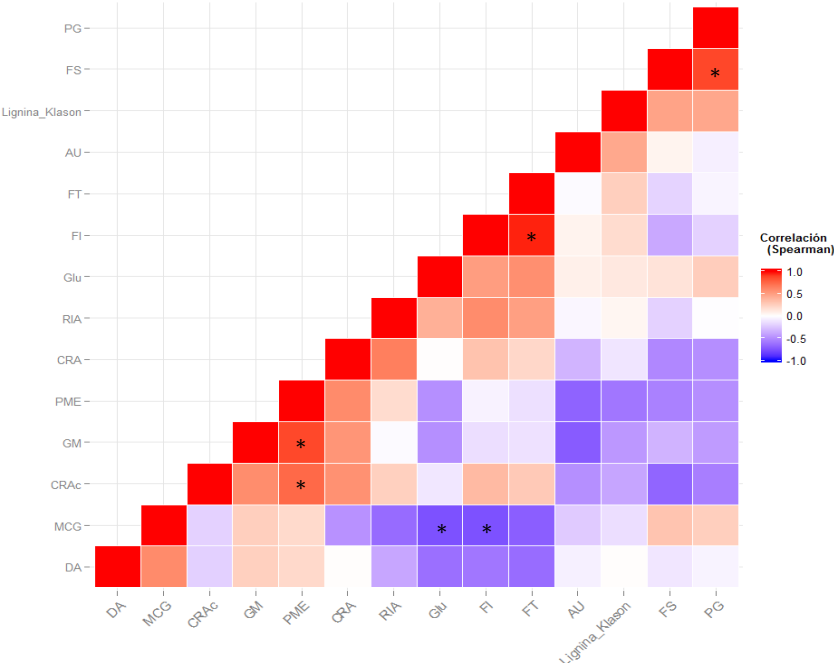


Figura A.9. Correlación de Spearman en caquis no astringentes de maduración V. Relación lineal significativa para $p \leq 0,01$; asterisco (*).

Tabla A.17. Actividades PME y PG de los caquis astringentes de maduración III.

Muestra	PME	PG
	($\mu\text{mol H}^+/\text{min g mf}$)	($\text{nmol AGA}/\text{min g mf}$)
A-C	$4,3 \pm 0,0\text{D}^{\text{b}}_{\text{b}}$	$24,5 \pm 0,7\text{D}^{\text{a}}_{\text{a}}$
A-200/1	$25,7 \pm 1,7\text{B}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$40,7 \pm 1,4\text{B}^{\text{a}}_{\text{a}}$
A-200/3	$50,7 \pm 2,1\text{A}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$52,3 \pm 0,7\text{A}^{\text{a}}_{\text{a}}$
A-200/6	$25,9 \pm 0,7\text{B}^{\text{b}}_{\text{a}}$	$28,7 \pm 0,9\text{C}^{\text{a}}_{\text{a}}$
A-400/1	$21,0 \pm 0,5\text{C}^{\text{b}}_{\text{b}}$	$26,5 \pm 0,9\text{CD}^{\text{a}}_{\text{a}}$
A-400/3	$19,3 \pm 0,9\text{C}^{\text{b}}_{\text{b}}$	$29,0 \pm 1,0\text{C}^{\text{a}}_{\text{a}}$
A-400/6	$18,9 \pm 1,2\text{C}^{\text{b}}_{\text{a}}$	$23,8 \pm 1,0\text{D}^{\text{a}}_{\text{a}}$

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (A); mayúscula. ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan) o Kruskal-Wallis. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.18), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; superíndice. Test-T o U de Mann-Whitney. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.19), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; subíndice. Test-T. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.18. Actividades PME y PG de los caquis no astringentes de maduración III.

Muestra	PME	PG
	($\mu\text{mol H}^+/\text{min g mf}$)	($\text{nmol AGA}/\text{min g mf}$)
NA-C	$20,1 \pm 1,5\text{E}^{\text{a}}_{\text{b}}$	$20,3 \pm 0,9\text{D}^{\text{b}}_{\text{b}}$
NA-200/1	$30,8 \pm 1,6\text{D}^{\text{a}}_{\text{b}}$	$25,5 \pm 1,0\text{C}^{\text{b}}_{\text{a}}$
NA-200/3	$36,9 \pm 1,2\text{D}^{\text{b}}_{\text{b}}$	$32,0 \pm 0,7\text{A}^{\text{b}}_{\text{a}}$
NA-200/6	$38,2 \pm 1,7\text{CD}^{\text{a}}_{\text{b}}$	$26,6 \pm 0,5\text{BC}^{\text{a}}_{\text{a}}$
NA-400/1	$49,8 \pm 3,8\text{B}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$26,6 \pm 0,9\text{BC}^{\text{a}}_{\text{a}}$
NA-400/3	$45,2 \pm 0,5\text{BC}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$29,5 \pm 0,9\text{AB}^{\text{a}}_{\text{a}}$
NA-400/6	$59,3 \pm 4,2\text{A}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$20,9 \pm 0,8\text{D}^{\text{a}}_{\text{b}}$

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (NA); mayúscula. ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan) o Kruskal-Wallis. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla A.17) y NA, para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; superíndice. Test-T o U de Mann-Whitney. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.20), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; subíndice. Test-T o U de Mann-Whitney. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.19. Actividades PME y PG de los caquis astringentes de maduración V.

Muestra	PME	PG
	($\mu\text{mol H}^+/\text{min g mf}$)	($\text{nmol AGA}/\text{min g mf}$)
A-C	$12,9 \pm 0,9\text{C}^{\text{b}}_{\text{a}}$	$20,9 \pm 0,7\text{C}^{\text{b}}_{\text{b}}$
A-200/1	$25,4 \pm 0,5\text{AB}^{\text{b}}_{\text{a}}$	$21,0 \pm 0,8\text{BC}^{\text{a}}_{\text{b}}$
A-200/3	$27,2 \pm 1,1\text{A}^{\text{b}}_{\text{b}}$	$33,4 \pm 1,1\text{A}^{\text{a}}_{\text{b}}$
A-200/6	$22,0 \pm 0,8\text{B}^{\text{b}}_{\text{b}}$	$23,3 \pm 0,9\text{BC}^{\text{a}}_{\text{b}}$
A-400/1	$27,5 \pm 1,4\text{A}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$17,8 \pm 0,5\text{D}^{\text{b}}_{\text{b}}$
A-400/3	$28,1 \pm 0,8\text{A}^{\text{b}}_{\text{a}}$	$20,3 \pm 0,8\text{CD}^{\text{b}}_{\text{b}}$
A-400/6	$27,2 \pm 2,9\text{A}^{\text{b}}_{\text{a}}$	$24,7 \pm 1,1\text{B}^{\text{a}}_{\text{a}}$

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (A); mayúscula. ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.20), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; superíndice. Test-T o U de Mann-Whitney. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla A.17) y V, para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; subíndice. Test-T. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.20. Actividades PME y PG de los caquis no astringentes de maduración V.

Muestra	PME	PG
	($\mu\text{mol H}^+/\text{min g mf}$)	($\text{nmol AGA}/\text{min g mf}$)
NA-C	$28,7 \pm 0,5\text{E}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$30,2 \pm 1,0\text{A}^{\text{a}}_{\text{a}}$
NA-200/1	$44,5 \pm 0,7\text{CD}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$21,6 \pm 1,0\text{B}^{\text{a}}_{\text{b}}$
NA-200/3	$48,1 \pm 1,8\text{BC}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$32,5 \pm 0,6\text{A}^{\text{a}}_{\text{a}}$
NA-200/6	$56,2 \pm 2,3\text{AB}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$15,1 \pm 0,8\text{C}^{\text{b}}_{\text{b}}$
NA-400/1	$36,3 \pm 3,1\text{DE}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$23,7 \pm 1,4\text{B}^{\text{a}}_{\text{a}}$
NA-400/3	$37,2 \pm 1,4\text{DE}^{\text{a}}_{\text{b}}$	$23,8 \pm 0,8\text{B}^{\text{a}}_{\text{b}}$
NA-400/6	$58,2 \pm 4,8\text{A}^{\text{a}}_{\text{a}}$	$26,0 \pm 0,6\text{B}^{\text{a}}_{\text{a}}$

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (NA); mayúscula. ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A (Tabla A.19) y NA, para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; superíndice. Test-T o U de Mann-Whitney. **Efecto maduración:** diferencias entre III (Tabla A.18) y V, para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; subíndice. Test-T o U de Mann-Whitney. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.21. DA, CRAC y MCG de los caquis control.

Muestra	DA (g muestra/mL)		CRAC (mL/g muestra)		MCG (% muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	0,46 ± 0,01	0,46 ± 0,01	5,6 ± 0,2	5,6 ± 0,2	>24	>24
Pectina	0,73 ± 0,01	0,73 ± 0,01	4,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	10	10
A-C, III	0,18 ± 0,01 ^a _a	0,49 ± 0,01 ^{*a} _a	12,2 ± 0,8 ^a _a	5,0 ± 0,2 ^{*a} _a	4	12*
NA-C, III	0,24 ± 0,01 ^a _a	0,59 ± 0,01 ^{*a} _a	13,0 ± 0,8 ^a _a	5,3 ± 0,2 ^{*a} _a	2	10*
A-C, V	0,24 ± 0,01 ^a _a	0,63 ± 0,01 ^{*a} _a	8,8 ± 0,4 ^a _b	3,7 ± 0,2 ^{*a} _b	3	10*
NA-C, V	0,28 ± 0,02 ^a _a	0,58 ± 0,01 ^{*a} _a	9,2 ± 0,4 ^a _b	4,1 ± 0,2 ^{*a} _b	4	12*

DA: densidad aparente. CRAC: capacidad de retención de aceite. MCG: mínima concentración de gelificación.

Efecto eliminación de la astringencia: diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V); Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V, para igual astringencia (A ó NA); Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA y liofilizado**.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.22. CAA, CRA y CH de los caquis control.

Muestra	CAA (mL/g muestra)		CRA (mL/g muestra)		CH (mL/g muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2	4,0 ± 0,2	4,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Pectina	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	4,6 ± 0,2	4,6 ± 0,2
A-C, III	24,9 ± 0,7 ^{b_a}	4,4 ± 0,1 ^{*a_a}	15,1 ± 0,1 ^{b_a}	2,7 ± 0,0 ^{*a_a}	17,8 ± 0,6 ^{b_a}	12,2 ± 0,1 ^{*a_a}
NA-C, III	40,8 ± 1,0 ^{a_a}	3,7 ± 0,2 ^{*a_a}	19,0 ± 0,6 ^{a_a}	3,4 ± 0,1 ^{*a_a}	46,3 ± 0,7 ^{a_a}	5,1 ± 0,1 ^{*b_b}
A-C, V	17,7 ± 0,6 ^{b_b}	2,5 ± 0,1 ^{*b_b}	13,8 ± 0,3 ^{a_b}	2,4 ± 0,1 ^{*b_b}	17,7 ± 0,4 ^{b_a}	10,9 ± 0,1 ^{*a_b}
NA-C, V	28,7 ± 0,9 ^{a_b}	3,2 ± 0,1 ^{*a_a}	14,4 ± 0,1 ^{a_b}	3,6 ± 0,2 ^{*a_a}	27,0 ± 0,6 ^{a_b}	5,9 ± 0,1 ^{*b_a}

CAA: capacidad de absorción de agua. CRA: capacidad de retención de agua. CH: capacidad de hinchamiento.

Efecto eliminación de la astringencia: diferencias entre A y NA, para un mismo estado de maduración (III ó V); Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V, para igual astringencia (A ó NA); Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA y liofilizado**.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.23. DA, CRAc y MCG de los caquis astringentes de maduración III.

Muestra	DA (g muestra/mL)		CRAc (mL/g muestra)		MCG (% muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	0,46 ± 0,01	0,46 ± 0,01	5,6 ± 0,2	5,6 ± 0,2	>24	>24
Pectina	0,73 ± 0,01	0,73 ± 0,01	4,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	10	10
A-C	0,18 ± 0,01C	0,49 ± 0,01*CD	12,2 ± 0,8A	5,0 ± 0,2*A	4	12*
A-200/1	0,25 ± 0,01AB ^a _a	0,53 ± 0,01*ABCD ^a _a	10,5 ± 0,8B ^a _a	5,0 ± 0,0*A ^a _a	2	10*
A-200/3	0,22 ± 0,02ABC ^a _a	0,50 ± 0,01*BCD ^b _a	10,6 ± 0,3B ^a _a	4,9 ± 0,2*A ^a _a	3	12*
A-200/6	0,26 ± 0,01AB ^a _a	0,49 ± 0,01*D ^b _a	13,0 ± 0,1A ^a _a	4,7 ± 0,1*A ^a _a	3	10*
A-400/1	0,25 ± 0,01AB ^a _a	0,65 ± 0,01*A ^b _a	8,7 ± 0,1C ^b _b	5,1 ± 0,1*A ^a _a	3	12*
A-400/3	0,20 ± 0,01BC ^a _a	0,55 ± 0,01*AB ^b _a	10,5 ± 0,4B ^b _a	5,1 ± 0,2*A ^a _a	3	10*
A-400/6	0,29 ± 0,01A ^a _a	0,54 ± 0,01*AB ^b _a	9,4 ± 0,2BC ^b _a	5,0 ± 0,2*A ^a _a	3	10*

DA: densidad aparente. CRAc: capacidad de retención de aceite. MCG: mínima concentración de gelificación.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.25), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.27), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA y liofilizado**.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.24. CAA, CRA y CH de los caquis astringentes de maduración III.

Muestra	CAA (mL/g muestra)		CRA (mL/g muestra)		CH (mL/g muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2	4,0 ± 0,2	4,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Pectina	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	4,6 ± 0,2	4,6 ± 0,2
A-C	24,9 ± 0,7B	4,4 ± 0,1*AB	15,1 ± 0,1A	2,7 ± 0,0*AB	17,8 ± 0,6D	12,2 ± 0,1*B
A-200/1	36,0 ± 1,3A ^b _a	3,8 ± 0,2*C ^a _a	15,9 ± 0,1A ^b _a	3,0 ± 0,2*AB ^b _a	23,7 ± 1,0C ^b _a	6,0 ± 0,1*E ^a _b
A-200/3	32,7 ± 1,4A ^b _a	3,7 ± 0,1*C ^a _a	16,1 ± 0,9A ^b _a	3,1 ± 0,1*AB ^a _a	**	8,2 ± 0,2C ^a _b
A-200/6	35,5 ± 3,3A ^b _a	4,0 ± 0,0*BC ^a _a	16,2 ± 1,4A ^b _a	3,4 ± 0,1*A ^a _a	30,0 ± 0,5A ^b _a	7,6 ± 0,2*D ^a _b
A-400/1	26,6 ± 0,1A ^b _a	4,6 ± 0,3*A ^a _a	13,7 ± 0,3A ^b _a	2,9 ± 0,2*AB ^a _b	27,8 ± 0,7B ^a _a	8,5 ± 0,1*C ^a _a
A-400/3	22,8 ± 0,2C ^b _b	4,5 ± 0,2*AB ^a _a	16,3 ± 0,8A ^b _a	2,4 ± 0,1*B ^b _b	17,1 ± 0,3D ^b _b	15,1 ± 0,1*A ^a _a
A-400/6	20,7 ± 0,4D ^b _b	4,0 ± 0,1*BC ^a _b	13,4 ± 0,3A ^b _a	3,0 ± 0,1*AB ^b _b	18,5 ± 0,4D ^b _a	8,2 ± 0,1*C ^a _b

CAA: capacidad de absorción de agua. CRA: capacidad de retención de agua. CH: capacidad de hinchamiento.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.26), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.28), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA** y **liofilizado**. ** No determinado por falta de muestra. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.25. DA, CRAc y MCG de los caquis no astringentes de maduración III.

Muestra	DA (g muestra/mL)		CRAc (mL/g muestra)		MCG (% muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	0,46 ± 0,01	0,46 ± 0,01	5,6 ± 0,2	5,6 ± 0,2	>24	>24
Pectina	0,73 ± 0,01	0,73 ± 0,01	4,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	10	10
NA-C	0,24 ± 0,01AB	0,59 ± 0,01* ^C	13,0 ± 0,8A	5,3 ± 0,2* ^A	2	10*
NA-200/1	0,26 ± 0,02AB ^a _a	0,64 ± 0,01* ^{BC} _a	10,5 ± 0,5B ^a _a	5,0 ± 0,1* ^A _a	2	10*
NA-200/3	0,21 ± 0,01B ^a _a	0,63 ± 0,02* ^{ABC} _a	12,5 ± 0,5A ^b _a	4,7 ± 0,1* ^A _a	3	12*
NA-200/6	0,29 ± 0,02AB ^a _a	0,69 ± 0,01* ^{AB} _a	9,3 ± 0,3B ^b _b	4,3 ± 0,3* ^A _a	2	12*
NA-400/1	0,29 ± 0,02A ^a _a	0,70 ± 0,01* ^A _a	10,1 ± 0,2B ^a _b	4,5 ± 0,2* ^A _a	4	10*
NA-400/3	0,21 ± 0,01B ^a _a	0,65 ± 0,01* ^{ABC} _a	13,1 ± 0,4A ^a _a	4,8 ± 0,3* ^A _a	2	10*
NA-400/6	0,21 ± 0,01B ^b _a	0,66 ± 0,01* ^{ABC} _a	12,3 ± 0,4A ^a _a	4,6 ± 0,1* ^A _a	2	12*

DA: densidad aparente. CRAc: capacidad de retención de aceite. MCG: mínima concentración de gelificación.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.23), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.29), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA** y **liofilizado**.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.26. CAA, CRA y CH de los caquis no astringentes de maduración III.

Muestra	CAA (mL/g muestra)		CRA (mL/g muestra)		CH (mL/g muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2	4,0 ± 0,2	4,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Pectina	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	4,6 ± 0,2	4,6 ± 0,2
NA-C	40,8 ± 1,0B	3,7 ± 0,2*AB	19,0 ± 0,6C	3,4 ± 0,1*BC	46,3 ± 0,7A	5,1 ± 0,1*A
NA-200/1	46,6 ± 2,8A _a	3,2 ± 0,2*BC _b	30,9 ± 1,5A _a	3,6 ± 0,1*B _a	39,0 ± 0,6B _a	5,2 ± 0,1*A _b
NA-200/3	39,7 ± 1,1B _a	2,8 ± 0,1*C _b	22,7 ± 0,4B _a	3,3 ± 0,2*BC _a	**	4,2 ± 0,1D _b
NA-200/6	45,1 ± 1,0AB _a	3,9 ± 0,2*A _a	23,0 ± 0,6B _a	3,6 ± 0,2*B _a	34,8 ± 1,0C _a	4,5 ± 0,1*CD _b
NA-400/1	40,7 ± 2,5B _a	3,1 ± 0,1*C _b	18,4 ± 1,1C _a	3,0 ± 0,2*C _a	26,9 ± 0,3E _a	3,5 ± 0,1*E _b
NA-400/3	31,9 ± 1,3C _a	3,1 ± 0,1*C _b	19,2 ± 0,0C _a	3,8 ± 0,1*B _a	**	4,7 ± 0,1BC _b
NA-400/6	47,0 ± 1,1A _a	3,7 ± 0,3*AB _a	23,9 ± 0,5B _a	4,3 ± 0,1*A _a	31,8 ± 0,5D _a	5,0 ± 0,1*AB _b

CAA: capacidad de absorción de agua. CRA: capacidad de retención de agua. CH: capacidad de hinchamiento.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (III) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan); mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.24), para un mismo estado de maduración (III) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.30), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA y liofilizado**. ** No determinado por falta de muestra.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.27. DA, CRAC y MCG de los caquis astringentes de maduración V.

Muestra	DA (g muestra/mL)		CRAC (mL/g muestra)		MCG (% muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	0,46 ± 0,01	0,46 ± 0,01	5,6 ± 0,2	5,6 ± 0,2	>24	>24
Pectina	0,73 ± 0,01	0,73 ± 0,01	4,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	10	10
A-C	0,24 ± 0,01CD	0,63 ± 0,01*BC	8,8 ± 0,4A	3,7 ± 0,2*A	3	10*
A-200/1	0,27 ± 0,01AB ^a _a	0,67 ± 0,01*AB ^a _a	8,1 ± 0,3A ^b _b	4,0 ± 0,2*A ^a _b	3	10*
A-200/3	0,24 ± 0,01CD ^a _a	0,63 ± 0,00*BC ^a _a	8,9 ± 0,7A ^b _a	3,6 ± 0,1*A ^a _b	3	10*
A-200/6	0,29 ± 0,01A ^a _a	0,67 ± 0,01*A ^a _a	8,8 ± 0,5A ^b _b	4,0 ± 0,3*A ^a _a	4	10*
A-400/1	0,25 ± 0,01BCD ^a _a	0,60 ± 0,00*C ^a _a	9,5 ± 0,2A ^b _a	4,0 ± 0,3*A ^a _b	4	12*
A-400/3	0,27 ± 0,01ABC ^a _a	0,64 ± 0,01*ABC ^a _a	9,5 ± 0,2A ^a _a	4,2 ± 0,1*A ^a _b	4	10*
A-400/6	0,23 ± 0,01D ^a _b	0,67 ± 0,01*A ^a _a	9,9 ± 0,4A ^a _a	4,0 ± 0,2*A ^a _b	6	12*

DA: densidad aparente. CRAC: capacidad de retención de aceite. MCG: mínima concentración de gelificación.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.29), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.23), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA** y **liofilizado**.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.28. CAA, CRA y CH de los caquis astringentes de maduración V.

Muestra	CAA (mL/g muestra)		CRA (mL/g muestra)		CH (mL/g muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2	4,0 ± 0,2	4,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Pectina	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	4,6 ± 0,2	4,6 ± 0,2
A-C	17,7 ± 0,6E	2,5 ± 0,1*D	13,8 ± 0,3C	2,4 ± 0,1*C	17,7 ± 0,4D	10,9 ± 0,1*D
A-200/1	22,1 ± 1,2CD ^b _b	3,8 ± 0,2*B ^a _a	12,6 ± 0,3C ^b _b	3,2 ± 0,1*B ^a _a	16,2 ± 0,4E ^b _b	13,5 ± 0,1*B ^a _a
A-200/3	23,8 ± 0,7C ^b _b	3,9 ± 0,2*B ^a _a	14,3 ± 0,5BC ^b _a	3,2 ± 0,2*B ^a _a	20,0 ± 0,5C ^b	16,0 ± 0,1*A ^a _a
A-200/6	21,0 ± 0,2D ^b _b	3,2 ± 0,2*C ^a _b	17,1 ± 0,5A ^a _a	3,2 ± 0,2*B ^b _a	19,4 ± 0,4C ^b _b	12,7 ± 0,1*C ^a _a
A-400/1	31,3 ± 0,4A ^a _a	3,6 ± 0,1*BC ^a _b	16,1 ± 1,1AB ^a _a	3,7 ± 0,1*A ^a _a	27,0 ± 0,6A ^a _a	6,3 ± 0,1*G ^a _b
A-400/3	25,7 ± 0,3B ^b _a	3,7 ± 0,1*B ^a _b	12,7 ± 1,0C ^b _a	3,4 ± 0,3*AB ^a _a	23,3 ± 0,5B ^b _a	10,3 ± 0,1*E ^a _b
A-400/6	23,7 ± 0,2C ^a _a	4,6 ± 0,1*A ^a _a	12,6 ± 0,2C ^b _a	3,4 ± 0,2*AB ^a _a	17,7 ± 0,4D ^b _a	9,5 ± 0,1*F ^a _a

CAA: capacidad de absorción de agua. CRA: capacidad de retención de agua. CH: capacidad de hinchamiento.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (A); ANOVA de un factor (test de Duncan); mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.30), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.24), para igual astringencia (A) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA y liofilizado**. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.29. DA, CRAc y MCG de los caquis no astringentes de maduración V.

Muestra	DA (g muestra/mL)		CRAc (mL/g muestra)		MCG (% muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	0,46 ± 0,01	0,46 ± 0,01	5,6 ± 0,2	5,6 ± 0,2	>24	>24
Pectina	0,73 ± 0,01	0,73 ± 0,01	4,6 ± 0,1	4,6 ± 0,1	10	10
NA-C	0,28 ± 0,02AB	0,58 ± 0,01* ^C	9,2 ± 0,4D	4,1 ± 0,2* ^A	4	12*
NA-200/1	0,25 ± 0,01B ^a _a	0,65 ± 0,00* ^A _a	11,2 ± 0,3BC ^a _a	4,2 ± 0,1* ^A _a ^b	2	12*
NA-200/3	0,27 ± 0,01AB ^a _a	0,62 ± 0,00* ^B _a	11,2 ± 0,0BC ^a _a	4,0 ± 0,0* ^A _a ^b	4	12*
NA-200/6	0,29 ± 0,02A ^a _a	0,61 ± 0,01* ^{BC} _a ^b	12,0 ± 0,6B ^a _a	4,0 ± 0,2* ^A _a	4	12*
NA-400/1	0,28 ± 0,01AB ^a _a	0,64 ± 0,00* ^A _a	13,6 ± 0,5A ^a _a	3,8 ± 0,1* ^A _a ^b	4	14*
NA-400/3	0,31 ± 0,01A ^a _a	0,61 ± 0,00* ^{BC} _a	10,3 ± 0,7CD ^a _b	4,5 ± 0,2* ^A _a	4	14*
NA-400/6	0,25 ± 0,01B ^a _a	0,62 ± 0,00* ^B _a	10,4 ± 0,2CD ^a _b	4,2 ± 0,2* ^A _a	4	12*

DA: densidad aparente. CRAc: capacidad de retención de aceite. MCG: mínima concentración de gelificación.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.27), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.25), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA** y **liofilizado**.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.30. CAA, CRA y CH de los caquis no astringentes de maduración V.

Muestra	CAA (mL/g muestra)		CRA (mL/g muestra)		CH (mL/g muestra)	
	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado	RIA	Liofilizado
Celulosa	3,3 ± 0,2	3,3 ± 0,2	4,0 ± 0,2	4,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1	1,9 ± 0,1
Pectina	1,5 ± 0,0	1,5 ± 0,0	0,2 ± 0,0	0,2 ± 0,0	4,6 ± 0,2	4,6 ± 0,2
NA-C	28,7 ± 0,9C	3,2 ± 0,1*BC	14,4 ± 0,1C	3,6 ± 0,2*A	27,0 ± 0,6B	5,9 ± 0,1*B
NA-200/1	36,8 ± 0,8A ^a _b	4,0 ± 0,2*A ^a _a	18,3 ± 0,6A ^a _b	3,4 ± 0,1*AB ^a _a	21,5 ± 0,4E ^a _b	4,5 ± 0,1*D ^b _b
NA-200/3	36,3 ± 2,4AB ^a _a	4,0 ± 0,1*AB ^a _a	16,8 ± 0,4AB ^a _b	3,3 ± 0,2*AB ^a _a	30,0 ± 0,7A ^a	6,4 ± 0,1*A ^b _a
NA-200/6	35,8 ± 1,8ABC ^a _b	2,6 ± 0,0*D ^b _b	18,0 ± 0,7A ^a _b	3,7 ± 0,1*A ^a _a	23,3 ± 0,5D ^a _b	5,0 ± 0,1*C ^b _a
NA-400/1	31,4 ± 1,3ABC ^a _b	2,7 ± 0,1*CD ^b _b	18,6 ± 0,5A ^a _a	3,4 ± 0,2*AB ^a _a	24,4 ± 0,6CD ^b _a	3,5 ± 0,1*E ^b _a
NA-400/3	30,6 ± 1,1ABC ^a _a	3,1 ± 0,2*BCD ^a _a	16,5 ± 0,3ABC ^a _b	3,1 ± 0,1*B ^a _b	30,9 ± 0,5A ^a	4,6 ± 0,1*D ^b _a
NA-400/6	28,6 ± 0,9BC ^a _b	3,3 ± 0,2*ABC ^b _a	14,9 ± 0,4BC ^a _b	3,0 ± 0,2*B ^a _b	25,8 ± 0,5BC ^a _b	4,5 ± 0,1*D ^b _b

CAA: capacidad de absorción de agua. CRA: capacidad de retención de agua. CH: capacidad de hinchamiento.

Efecto tratamientos de APH: diferencias entre muestras con igual maduración (V) y astringencia (NA); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto eliminación de la astringencia:** diferencias entre A y NA (Tabla A.28), para un mismo estado de maduración (V) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; superíndice. **Efecto maduración:** diferencias entre III y V (Tabla A.26), para igual astringencia (NA) y tratamiento de APH; Test-T o U de Mann-Whitney; subíndice. Asterisco (*) cuando existen diferencias significativas entre **RIA** y **liofilizado**.

Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.31. Fibra y RIA en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C durante 28 días (mg/g ms).

Muestra	Días	FI	FS	FT	RIA	FS:FI
A-C	0	104,2 ± 4,4Ab	46,5 ± 3,4Aa	150,8 ± 1,2Ab	189,7 ± 5,9Cb	1:2,2
	7	104,2 ± 6,8Ab	47,3 ± 1,0Aa	151,6 ± 7,0Aa	186,0 ± 6,3Cb	1:2,2
	14	110,7 ± 5,7Ab	46,7 ± 1,2Aa	157,4 ± 5,0Aa	206,9 ± 5,6BCab	1:2,4
	21	104,2 ± 3,8Ab	50,4 ± 1,3Aa	154,6 ± 2,7Aa	223,3 ± 4,5ABb	1:2,1
	28	111,7 ± 3,0Ab	46,8 ± 0,9Aa	158,6 ± 2,6Aa	243,1 ± 7,7Aa	1:2,4
A-200/3	0	113,0 ± 2,8Aab*	49,0 ± 3,2Aa	162,0 ± 1,4Aa*	228,3 ± 7,9Ba	1:2,3
	7	123,5 ± 7,2Aab	30,1 ± 2,2Bb	153,6 ± 5,0Aa	197,9 ± 2,6Cb	1:4,1
	14	135,6 ± 3,4Aa	33,4 ± 1,5Bb	169,1 ± 2,0Aa	193,3 ± 4,3Cb	1:4,1
	21	126,3 ± 6,6Aa	31,7 ± 2,4Bb	158,1 ± 4,2Aa	233,5 ± 10,1Bb	1:4,0
	28	123,0 ± 2,7Aab	32,0 ± 1,8Bb	155,0 ± 3,3Aa	279,6 ± 12,2Aa	1:3,8
A-200/6	0	119,8 ± 1,3Aa*	44,7 ± 2,6Aa*	164,5 ± 1,3Aa*	171,9 ± 3,0Cc	1:2,7
	7	128,6 ± 3,7Aa	26,7 ± 1,6Cb	155,2 ± 2,5Aa	231,9 ± 3,5Ba	1:4,8
	14	135,1 ± 7,5Aa	32,7 ± 1,7Bb	167,8 ± 9,3Aa	218,1 ± 4,5Ba	1:4,1
	21	129,6 ± 7,0Aa	26,3 ± 1,5Cb	155,9 ± 6,5Aa	287,9 ± 13,4Aa	1:4,9
	28	129,9 ± 4,7Aa	33,0 ± 1,5Bb	162,9 ± 3,2Aa	273,2 ± 13,4Aa	1:3,9

FI, FS, FT y RIA: mg/g ms. Tratamientos de APH a 37°C. Estado de maduración III. Media ± error (n = 3)

(Continuación Tabla A.31)

Efecto almacenamiento a 4°C: diferencias entre días de almacenamiento (0, 7, 14, 21 y 28) para un mismo tipo de muestra (C, 200/3 ó 200/6); ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto tratamientos de APH a distintos días:** diferencias entre C, 200/3 y 200/6 para un mismo día de almacenamiento; ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; minúscula.

Efecto temperatura del tratamiento de APH: diferencias entre 25 y 37°C en 200/3 ó 200/6 (Día 0); Test-T; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas. En esta tabla sólo se muestran los resultados de 37°C; consultar los resultados de 25°C en la Tabla 4. Existen diferencias significativas entre **RIA y FT** para todas las muestras; Test-T. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.32. Fibra y RIA en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C durante 28 días (mg/g mf).

Muestra	Días	FI	FS	FT	RIA	FS:FI
A-C	0	18,9 ± 0,8Ac	8,4 ± 0,6Aa	27,3 ± 0,2Ac	34,3 ± 1,1BCb	1:2,2
	7	18,5 ± 1,2Ab	8,4 ± 0,2Aa	26,9 ± 1,2Aa	33,0 ± 1,1Cc	1:2,2
	14	20,0 ± 1,0Ab	8,5 ± 0,2Aa	28,5 ± 0,9Aa	37,4 ± 1,0Bb	1:2,4
	21	19,0 ± 0,7Ab	9,2 ± 0,2Aa	28,2 ± 0,5Aa	40,7 ± 0,8Ab	1:2,1
	28	20,1 ± 0,5Ab	8,4 ± 0,2Aa	28,6 ± 0,5Ab	43,8 ± 1,4Ab	1:2,4
A-200/3	0	21,2 ± 0,5Ab*	9,2 ± 0,6Aa	30,4 ± 0,3Ab*	42,9 ± 1,5Ba	1:2,3
	7	23,7 ± 1,4Aa	5,8 ± 0,4Bb	29,4 ± 1,0Aa	37,9 ± 0,5Cb	1:4,1
	14	25,9 ± 0,7Aa	6,4 ± 0,3Bb	32,2 ± 0,4Aa	36,9 ± 0,8Cb	1:4,1
	21	24,4 ± 1,3Aa	6,1 ± 0,5Bb	30,6 ± 0,8Aa	45,2 ± 1,9Bb	1:4,0
	28	23,5 ± 0,5Aa	6,1 ± 0,3Bb	29,7 ± 0,6Aab	53,5 ± 2,3Aa	1:3,8

Tabla A.32. (continuación) Fibra y RIA en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C durante 28 días (mg/g mf).

Muestra	Días	FI	FS	FT	RIA	FS:FI
A-200/6	0	23,4 ± 0,3Aa*	8,7 ± 0,5Aa*	32,2 ± 0,2Aa*	33,6 ± 0,6Cb	1:2,7
	7	24,8 ± 0,7Aa	5,1 ± 0,3Cb	29,9 ± 0,5Aa	44,7 ± 0,7Ba	1:4,8
	14	26,1 ± 1,5Aa	6,3 ± 0,3Bb	32,4 ± 1,8Aa	42,2 ± 0,9Ba	1:4,1
	21	25,4 ± 1,4Aa	5,2 ± 0,3Cb	30,6 ± 1,3Aa	56,4 ± 2,6Aa	1:4,9
	28	25,1 ± 0,9Aa	6,4 ± 0,3Bb	31,6 ± 0,8Aa	52,8 ± 2,6Aa	1:3,9

FI, FS, FT y RIA: mg/g mf. Tratamientos de APH a 37°C. Estado de maduración III. Media ± error (n = 3)

Efecto almacenamiento a 4°C: diferencias entre días de almacenamiento (0, 7, 14, 21 y 28) para un mismo tipo de muestra (C, 200/3 ó 200/6); ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto tratamientos de APH a distintos días:** diferencias entre C, 200/3 y 200/6 para un mismo día de almacenamiento; ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; minúscula. **Efecto temperatura del tratamiento de APH:** diferencias entre 25 y 37°C en 200/3 ó 200/6 (Día 0); Test-T; asterisco (*) cuando existen diferencias significativas. En esta tabla sólo se muestran los resultados de 37°C; consultar los resultados de 25°C en la Tabla A.9. Existen diferencias significativas entre RIA y FT para todas las muestras; Test-T. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.33. Actividades enzimáticas (PME, PG) y GM en caquis astringentes de maduración III almacenados a 4°C entre 0 y 28 días.

Muestra	Días	PME ($\mu\text{mol H}^+/\text{min g mf}$)	PG ($\text{nmol AGA}/\text{min g mf}$)	GM ($\mu\text{mol MeOH}/\text{g RIA}$)
A-C	0	18,7 \pm 1,1Bb	26,0 \pm 1,1Ba	576,6 \pm 13,3Aa
	7	10,6 \pm 0,5Cc	30,1 \pm 0,8Aa	455,4 \pm 24,8Ba
	14	7,9 \pm 0,1Cc	9,6 \pm 0,5Dc	471,0 \pm 15,1Ba
	21	9,0 \pm 1,0Cc	17,2 \pm 0,5Cc	417,9 \pm 3,5Ba
	28	27,7 \pm 1,6Ab	16,8 \pm 0,6Cb	424,0 \pm 17,0Ba
A-200/3	0	20,3 \pm 1,2Bb*	12,5 \pm 0,5Cc*	376,1 \pm 17,9Ab
	7	20,5 \pm 0,1Bb	27,9 \pm 0,2Ab	314,1 \pm 10,6Ab
	14	17,0 \pm 0,1Bb	20,6 \pm 1,1Bb	367,3 \pm 7,1Ab
	21	19,0 \pm 1,5Bb	29,0 \pm 0,9Aa	323,4 \pm 17,2Ab
	28	30,6 \pm 2,3Ab	22,8 \pm 1,2Ba	343,9 \pm 19,8Ab
A-200/6	0	32,7 \pm 1,0Ea*	23,6 \pm 0,6Ab*	254,4 \pm 13,4Cc
	7	53,2 \pm 0,6Ba	25,5 \pm 0,4Ac	308,7 \pm 5,0Bb
	14	45,4 \pm 0,7Ca	23,9 \pm 0,8Aa	321,4 \pm 3,4Bc
	21	40,6 \pm 0,4Da	24,3 \pm 0,9Ab	329,4 \pm 6,5Bb
	28	57,6 \pm 0,3Aa	19,1 \pm 0,7Bb	412,1 \pm 3,7Aa

Tratamientos de APH a 37°C. PME: $\mu\text{mol ácido}/\text{min g mf}$. PG: $\text{nmol AGA}/\text{min g mf}$. GM: $\mu\text{mol MeOH}/\text{g RIA}$.

Efecto almacenamiento a 4°C: diferencias entre días de almacenamiento (0, 7, 14, 21 y 28) para un mismo tipo de muestra (C, 200/3 ó 200/6); ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto tratamientos de APH a distintos días:** diferencias entre C, 200/3 y 200/6 para un mismo día de almacenamiento; ANOVA de un factor (test de Duncan)/Brown-Forsythe o Kruskal-Wallis; minúscula.

(Continuación Tabla A.33)

Efecto temperatura del tratamiento de APH: diferencias entre 25 y 37°C en 200/3 ó 200/6 (Día 0); asterisco (*) cuando existen diferencias significativas. En esta tabla sólo se muestran los resultados de 37°C. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

Tabla A.34. Propiedades tecno-funcionales del RIA.

Muestra	Días	DA (g RIA/mL)	CRAc (mL/g RIA)	MCG (% RIA)	CAA (mL/g RIA)	CRA (mL/g RIA)	CH (mL/g RIA)
Celulosa	-	0,46 ± 0,01	5,6 ± 0,2	>24	3,3 ± 0,2	4,0 ± 0,2	1,9 ± 0,1
Pectina	-	0,73 ± 0,01	4,6 ± 0,1	10	1,5 ± 0,0	0,2 ± 0,0	4,6 ± 0,2
A-C	0	0,19 ± 0,00ABa	13,2 ± 0,1Aa	3	22,1 ± 0,3Ac	15,2 ± 0,8Ba	21,7 ± 0,5Bc
	7	0,21 ± 0,02ABa	9,6 ± 0,2Dc	3	19,9 ± 0,2Bb	17,3 ± 0,5Ab	22,2 ± 0,6Bc
	14	0,21 ± 0,01ABa	11,5 ± 0,3Cb	3	17,9 ± 0,2Cc	14,3 ± 0,4BCb	21,7 ± 0,5Bc
	21	0,16 ± 0,01Bb	13,4 ± 0,1Ab	3	22,7 ± 0,4Ac	15,3 ± 0,9Bb	26,0 ± 0,6Ac
	28	0,22 ± 0,01Ab	12,0 ± 0,0Bc	3	22,6 ± 0,3Ac	12,5 ± 0,1Cb	25,4 ± 0,4Ac
A-200/3	0	0,20 ± 0,00Ba	13,1 ± 0,1Aa	2	29,0 ± 0,5Da	16,7 ± 0,9Ba	28,2 ± 0,5Db
	7	0,20 ± 0,01ABa	10,9 ± 0,1Db	2	45,0 ± 1,9Aa	22,9 ± 1,0Aa	33,7 ± 0,8Cb
	14	0,22 ± 0,01ABa	11,4 ± 0,1Cb	2	35,3 ± 1,2Cb	18,5 ± 1,3Ba	24,4 ± 0,6Eb
	21	0,23 ± 0,01ABa	12,2 ± 0,2Bc	2	41,0 ± 0,9ABb	23,2 ± 1,4Aa	50,0 ± 0,8Ab
	28	0,25 ± 0,00Ab	13,3 ± 0,1Ab	2	40,5 ± 1,6Bb	19,0 ± 0,9Ba	43,6 ± 0,5Bb

Tabla A.34. (continuación) Propiedades tecno-funcionales del RIA.

Muestra	Días	DA (g RIA/mL)	CRAc (mL/g RIA)	MCG (% RIA)	CAA (mL/g RIA)	CRA (mL/g RIA)	CH (mL/g RIA)
A-200/6	0	0,20 ± 0,01Ba	10,1 ± 0,1Cb	2	25,1 ± 1,2Cb	13,5 ± 0,4Da	31,0 ± 0,6Da
	7	0,20 ± 0,01Ba	14,5 ± 0,4ABa	2	45,3 ± 1,7Ba	16,5 ± 0,6CDb	52,9 ± 0,8Ba
	14	0,23 ± 0,01ABa	15,1 ± 0,1Aa	2	51,5 ± 1,4Aa	21,0 ± 0,5ABa	43,3 ± 0,6Ca
	21	0,23 ± 0,01ABa	14,2 ± 0,1Ba	2	45,5 ± 0,9Ba	23,4 ± 2,1Aa	58,0 ± 1,2Aa
	28	0,30 ± 0,00Aa	15,0 ± 0,1Aa	2	50,7 ± 2,7ABa	18,4 ± 0,5BCa	54,3 ± 0,8Ba

Tratamientos de APH a 37°C. Media ± error (n = 3). DA: densidad aparente. CRAc: capacidad de retención de aceite. MCG: mínima concentración de gelificación. CAA: capacidad de absorción de agua. CRA: capacidad de retención de agua. CH: capacidad de hinchamiento. **Efecto almacenamiento a 4°C:** diferencias entre días de almacenamiento (0, 7, 14, 21 y 28) para un mismo tipo de muestra (C, 200/3 ó 200/6); ANOVA de un factor/Brown-Forsythe (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; mayúscula. **Efecto tratamientos de APH a distintos días:** diferencias entre C, 200/3 y 200/6 para un mismo día de almacenamiento; ANOVA de un factor (test de Duncan) o Kruskal-Wallis; minúscula. Diferencias significativas para $p \leq 0,05$.

